

铁死亡与激素性股骨头坏死的研究进展及相关铁死亡基因在骨代谢或氧化应激方面的讨论

王绍庚^{1*}, 黄富超², 汤家骏³

¹深圳大学第二附属医院创伤骨科与矫形外科, 广东 深圳

²广东医科大学深圳宝安临床医学院, 广东 深圳

³暨南大学附属第二临床医学院, 广东 深圳

收稿日期: 2024年12月24日; 录用日期: 2025年1月16日; 发布日期: 2025年1月30日

摘要

背景: 越来越多研究表明铁死亡可能参与激素性股骨头坏死的发生与发展。目的: 探讨铁死亡与激素性股骨头坏死的关系, 为其诊治提供新的思路。方法: 以“铁死亡, 股骨头坏死”为中文检索词, 以“ferroptosis, necrosis of the femoral head”为英文检索词, 检索PubMed、Science Citation Index Expanded、ScienceDirect、Scopus、万方、维普、中国知网数据库, 筛选激素性股骨头坏死与铁死亡研究相关文章进行综述分析。结果与结论: ① 铁死亡在激素性股骨头坏死发病中起重要作用。② 激素性股骨头坏死中铁死亡的发生受到多种机制通路调控。通过生物信息学方法筛选出的许多激素相关性股骨头坏死铁死亡相关基因仍需进一步的体内体外实验验证。③ 目前关于激素性股骨头坏死铁死亡相关机制尚不明确, 亟需深入探明两者的作用机制, 有望为激素性股骨头坏死提供新的治疗思路。

关键词

激素性股骨头坏死, 铁死亡, 氧化应激

Advances in Ferroptosis and Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of Femoral Head and Discussion of Related Ferroptosis Genes in Bone Metabolism or Oxidative Stress

Shaogeng Wang^{1*}, Fuchao Huang², Jiajun Tang³

*通讯作者。

文章引用: 王绍庚, 黄富超, 汤家骏. 铁死亡与激素性股骨头坏死的研究进展及相关铁死亡基因在骨代谢或氧化应激方面的讨论[J]. 临床医学进展, 2025, 15(1): 1717-1730. DOI: 10.12677/acm.2025.151230

¹Department of Orthopedics and Traumatology, The Second Affiliated Hospital of Shenzhen University, Shenzhen Guangdong

²Shenzhen Baoan Clinical Medical College of Guangdong Medical University, Shenzhen Guangdong

³The Second Clinical Medical College, Jinan University, Shenzhen Guangdong

Received: Dec. 24th, 2024; accepted: Jan. 16th, 2025; published: Jan. 30th, 2025

Abstract

Background: Ferroptosis may be involved in the development and progression of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. **Objective:** To explore the relationship between ferroptosis and steroid-induced osteonecrosis of femoral head, and to provide new ideas for steroid-induced osteonecrosis of femoral head diagnosis and treatment. **Methods:** Using “ferroptosis, osteonecrosis of the femoral head” as the Chinese search term and “ferroptosis, necrosis of the femoral head” as the English search term, we searched the PubMed, Science Citation Index Expanded, ScienceDirect, Scopus, Wanfang and VIP databases, and screened the articles related to the study of ferroptosis and steroid-induced osteonecrosis of femoral head from the establishment of the databases to 2024, and conducted a review analysis. **Results and Conclusions:** ① Ferroptosis plays an important role in the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head. ② Ferroptosis in steroid-induced osteonecrosis of femoral head is regulated by various mechanisms. Many of the genes associated with ferroptosis in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head screened by bioinformatics methods still need to be validated by further *in vivo* and *in vitro* experiments. ③ The mechanism of ferroptosis in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head is still unclear. Further investigation on the mechanism of action of both is expected to provide new therapeutic ideas for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head.

Keywords

Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head, Ferroptosis, Oxidative Stress

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 简介

股骨头坏死(ONFH)是一种常见的骨关节疾病[1]。可以将其分为两类：非创伤性和创伤性股骨头坏死。在非创伤性股骨头坏死中，由于长期、大剂量使用糖皮质激素导致的激素性股骨头坏死(SONFH)是最常见的类型[2]。激素性股骨头坏死，好发于 30~50 岁的中青年男性。早期隐匿性强、后期残疾率高[3]，是由于糖皮质激素的过量使用导致股骨头血供破坏，引起的股骨头中骨细胞及骨髓成分死亡[4]。病理机制包括细胞凋亡，凝血、脂质代谢、免疫失调，氧化应激，内皮细胞损伤等方面。主要的病理改变是骨与成骨细胞凋亡[5]。过量的 ROS (活性氧)产生会诱导氧化应激促进成骨细胞凋亡[6]。糖皮质激素水平上升，引起活性氧的产生和聚集，导致氧化应激，引起脂质过氧化物水平上升，诱导铁死亡的发生[7]。铁稳态对维持细胞的正常生理功能有重要意义[8]。铁死亡是由于铁代谢障碍，细胞内铁超载，导致脂质活性氧自由基生产过多，大量铁依赖性的脂质过氧化物积累，破坏细胞膜结构与功能，进而引发细胞死亡[9]。

其形态特征在于线粒体体积减小和线粒体的收缩,表现为线粒体膜密度增加、外膜完整性被破坏、线粒体嵴溶解消失[10]。其他生化特征包括细胞内谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)的消耗、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)失活以及 ROS 和脂质-ROS 的聚集[11]。与铁死亡相关的研究,最早可以追溯至 1980 年,由 Bannai 等发现并鉴定出胱氨酸/谷氨酸反向转运体系统(System X-C)开始[12]。在 2003 年,Delma 等发现,Erastin 可以诱导 Ras 基因突变的细胞死亡,但其作用靶点尚不明确[13]。随后, Yang 等在 2008 年确定了这种选择性致细胞死亡的方式并非细胞凋亡[14]。直到 2012 年, Dixon 等发现 Erastin 可以抑制 System X-C,从而导致细胞死亡,并将这种细胞死亡的方式正式命名为“铁死亡(Ferroptosis)”[15]。铁死亡在多种疾病中发挥重要作用,包括缺血性损伤、肾脏疾病、神经退行性疾病等。铁死亡在骨质疏松症、骨关节炎、类风湿性关节炎和骨肉瘤等骨骼相关疾病中也同样起着重要作用[16]。体内体外研究表明, DFO(去铁胺)增加了 HIF-1 α /VEGF 表达并促进了糖皮质激素诱导的股骨头坏死中的血管生成和成骨[17]。然而目前关于铁死亡在激素性股骨头坏死中的作用研究仍相对较少[18]。许多证据表明,铁死亡在激素性股骨头坏死的发病机制中起着重要作用。了解铁死亡诱导激素性股骨头坏死发生发展潜在机制可能对其发病机制有更深入的了解。此外,抑制铁死亡可能是治疗激素性股骨头坏死的一种新颖且有希望的选择[19][20]。

2. 铁死亡与激素性股骨头坏死的关系

2014 年, Yang 等首次提出 GPX4 在铁死亡中的关键作用[21],可通过降低脂质 ROS 来抑制铁死亡[22]。如果 GSH 合成不足, GPX4 活性会降低,导致脂质过氧化产物清除障碍并聚集,会破坏细胞膜的功能和结构,最终导致细胞发生铁死亡[23]。郑嘉乾等人收集了 4 例激素性股骨头坏死的骨组织标本,提取了标本中不同区域骨组织的总蛋白,再用 ELISA 检测 GPX4 的含量,发现坏死区 GPX4 含量低于正常区。GPX4 是抑制铁死亡的关键因子,坏死区 GPX4 含量下降提示铁死亡在一定程度上参与激素性股骨头坏死的发生。以激素性股骨头坏死患者骨髓中培养的原代 BMSCs 作为实验对象,对 hBMSCs 进行沉默 GPX4 (siGPX4)的转染,发现 GPX4 表达下调会抑制 hBMSCs (人骨髓间充质干细胞)成骨标志物 RUNX2、ALP 的 mRNA 表达。而人参皂苷 Rg3 可上调 GPX4 的 mRNA 表达,并促进 siGPX4 后 hBMSCs 中被下调的 RUNX2、ALP 的 mRNA 表达,促进成骨分化[24]。章家皓等人对激素性股骨头坏死标本中坏死区域与正常区域进行对比,发现差异蛋白的功能主要与氧化还原相关,其中坏死区域中 GPX4、超氧化物歧化酶 1、Bcl-2 蛋白表达及碱性磷酸酶活性较正常区域低。血清检测结果显示激素性股骨头坏死由 ARCOII 期向 III 期进展时,脂质氧化产物丙二醛也随之增加。该研究证实了激素的使用可引起抗氧化物质水平降低,提高成骨细胞氧化应激水平,诱导成骨细胞铁死亡的发生,最终导致激素性股骨头坏死发生病理进展[23]。成骨细胞铁死亡在激素性股骨头坏死发病中起重要作用[25]。Sun F 等人利用生物信息学分析筛选出地塞米松处理的成骨细胞中的差异表达基因,KEGG 功能主要富集在矿物质吸收、谷胱甘肽代谢和铁死亡中。体外实验结果表明,地塞米松处理 MC3T3-E1 细胞后,SLC7A11 蛋白表达显著降低,同时与铁死亡密切相关的指标 GPX4 表达也显著降低,细胞内 MDA 含量升高,ROS 及脂质 ROS 增高。电镜扫描结果显示,地塞米松处理后,成骨细胞的线粒体体积减少,线粒体嵴明显减少,提示 Dex 能够诱导 MC3T3-E1 细胞发生铁死亡。过表达 SLC7A11 及使用铁死亡抑制剂(Fer-1)可逆转 Dex 诱导的 MC3T3-E1 细胞铁死亡。地塞米松可以诱导 p53 表达增加,通过小干扰核糖核酸(siRNA)敲低 p53 的表达可逆转 MC3T3-E1 和 MOLY4 细胞中 SLC7A11 和 GPX4 表达的抑制,从而减少铁死亡的产生。他们的研究结果表明 Dex 通过 p53/SLC7A11/GPX4 通路诱导成骨细胞 MC3T3-E1 细胞铁死亡,SLC7A11 可能在地塞米松介导的铁死亡中发挥重要作用[19]。SIRT6 是 Sirtuin 家族的一员,具有 NAD⁺ 依赖性组蛋白去乙酰化酶活性以及 ADP-核糖基转移酶活性[26]。SIRT6 在成骨分化及血管生成中发挥重要作用。Fang L 等人从

激素性股骨头坏死模型中大鼠股骨头中提取蛋白质,结果表明 SLC7A11 和 GPX4 表达明显减少。GSH 和 MDA 含量也出现了相应的波动。血清铁和铁蛋白水平高于正常对照组。这些结果表明激素性股骨头坏死可能发生了铁死亡。采用 Western blot 法比较了正常及激素性股骨头坏死模型中 SIRT6 蛋白表达水平的变化,结果表明大鼠股骨头坏死区 SIRT6 表达减少。注射过表达 SIRT6 腺病毒后,与对照组相比,股骨头表面光滑,股骨头结构完整。SIRT6 过表达组 CD31 和 VEGF 阳性细胞增多,血管密度增加,微血管结构基本完整。体外实验证明 SIRT6 过表达保护了 MC3T3-E1 细胞在缺氧条件下的 ALP 活性和矿化特性,并且 Runx2 和 OCN 的表达升高。低氧能增加 HUVEC 细胞(人脐静脉内皮细胞) GSH 的消耗和 MDA 的含量,提高 HUVEC 细胞中的 ROS 水平,导致细胞内 GPX4 和 SLC7A11 表达水平降低,过表达 SIRT6 可以逆转 GPX4、SLC7A11 和 GSH 的降低,减少细胞内 MDA 和 ROS 的积累。他们的研究表明地塞米松显著抑制成骨细胞分化,破坏微血管形成,增加细胞内 Fe^{2+} 和 ROS 水平并诱导铁死亡的发生。过表达 SIRT6 可抑制铁死亡的发生,减轻血管内皮损伤,促进成骨分化,从而防止股骨头骨坏死的发生[27]。MP (甲泼尼龙, Methylprednisolone)破坏 ROS 清除系统并抑制 BMSCs 体外成骨分化, BMSCs 中的 ROS 水平与细胞死亡率呈正相关,MP 处理后脂质过氧化状态显著增加,而 Hm (去氢骆驼蓬碱 Harmine)处理以剂量依赖性方式减弱了这种状态。MP 处理降低了线粒体电位,这表明线粒体被破坏了。当用 Hm 处理 BMSCs 时,线粒体电位得到恢复。铁死亡的特征是线粒体的破坏和脂质过氧化失控。Fer-1 和 Hm 均能有效降低高剂量 MP 诱导的损伤。Hm 处理有效降低了 errastin 诱导的 BMSCs 铁死亡。通过生物信息学分析推测 HIF1- α 参与了 MP 诱导的铁死亡。蛋白质印迹分析也证实 MP 处理抑制了 HIF1- α 的表达。Hm 干预可以促进 HIF1- α 的表达从而增加 GSH 的产生从而进一步促进自由基的清除。当使用 shHif1a 抑制 HIF1- α 表达时, Hm 的保护作用消失。这些结果验证了铁死亡参与了 MP 诱导的 BMSC 损伤, Hm 通过 HIF1- α 信号通路缓解 MP 诱导的铁死亡,降低铁死亡在激素性股骨头坏死发病机制中的作用水平[28]。褪黑素(MT, N-乙酰-5-甲氧基色胺)是一种吲哚类激素,主要由哺乳动物松果体在夜间合成和分泌[29]。MP 处理 BMSC 后, ROS 水平增加, GPX4、SLC7A11 和 SOD2 的 mRNA 水平显著下调。MP 抑制成骨作用,经 MP 处理后, ALPL、BGLAP、转录因子 Runx2 和 SP7 均显著降低。MT 处理可显著减少 ROS 的产生。同时, MT 使 GPX4、SLC7A11 和 SOD2 等 ROS 清除基因的抑制状态恢复正常。加入 MT 后, BMSC 的成骨能力明显恢复。建立激素性股骨头坏死动物模型进一步验证了 MT 的保护作用。H&E、Masson 染色与 MicroCT 结果显示 MT 治疗组骨坏死减轻。MP 治疗后,股骨头内 ROS 水平也显著升高, MT 组这种变化明显减轻。同样, MT 处理能促进成骨分化相关蛋白如 RUNX2、Osterix 和 OCN 的表达。铁死亡参与了 SONFH 的发病过程, MT 可抑制铁死亡。利用生物信息学分析方法筛选出 GDF15 基因。Western 印迹分析显示, MP 处理的 BMSC 中 GDF15 的表达降低。GDF15 在糖皮质激素诱导的铁死亡过程中下调, MT 处理可能增加 GDF15 的表达, GDF15 发挥中和 ROS 和减轻铁死亡的能力。应用 shGDF15 来敲除 GDF15 在 BMSC 中的表达,进一步验证了 GDF15 在 MT 调节的铁死亡减弱和成骨分化中的功能。BMSC 中 GDF15 基因敲除后, MP 可引起更严重的细胞死亡,线粒体电位、脂质过氧化和 ROS 清除基因 SLC7A11 的变化趋势更加明显。MT 通过上调 GDF15 的表达,从而促进 SLC7A11/GSH/Gpx4 轴减轻铁死亡从而减轻 SONFH,补充外源性 MT 可能是治疗 SONFH 的一种有前途的方法[30]。余鹏等人通过生物信息学分析,获得激素性股骨头坏死的特征基因 CA9,其高表达提示激素性股骨头坏死患者发生了软骨退变。动物激素性股骨头坏死模型与正常组相比,软骨中 CA9 的表达量升高。同时动物模型中的 SLC7A11 和 GPX4 蛋白与 mRNA 表达水平较正常组明显降低, ACSL4 蛋白与 mRNA 表达量显著高于正常组,表明了软骨中存在由脂质过氧化诱导的铁死亡发生;该研究证明了激素性股骨头坏死软骨中发生了脂质过氧化,激素性股骨头坏死的软骨与铁死亡密切相关, CA9 可以通过 SLC7A11/GPX4 轴调控铁死亡的发生[31]。邵学坤等人通过体外实验验证鹿角多肽是否能抑制地塞米松

处理后 MC3T3-E114 细胞铁死亡的通路, 研究结果表明鹿角多肽可能通过调控 SLC7A11/GPX4 轴抑制成骨细胞铁死亡, 发挥对激素性股骨头坏死的治疗作用[32]。陶红成等人通过细胞实验验证了三七总皂苷可以抑制破骨细胞分化, 并且促进破骨细胞凋亡; 进一步对破骨细胞来源外泌体进行 miRNA 测序, 从中筛选出 11 个与成骨相关的差异表达 miRNA, 对候选 mRNA 进行 GO 和 KEGG 富集分析, 发现在与铁死亡相关的 PI3K-Akt 信号通路、p53 信号通路有富集, 说明细胞分化以及成骨细胞铁死亡可能对激素性股骨头坏死的发生发展过程具有重要作用。最后构建了 12 个铁死亡相关网络(miR-98-5p/PTGS, miR-23b-3p/PTGS2, miR-425-5p/TFRC, miR-133a-3p/TFRC, miR-185-5p/TFRC, miR-23b-3p/NFE2L2, miR-23b-3p/LAMP2, miR-98-5p/LAMP2, miR-182-5p/LAMP2, miR-182-5p/TLR4, miR-23b3p/ZFP36, miR-182-5p/ZFP36), 表明破骨细胞来源外泌体中 miRNA 可能通过介导成骨细胞铁死亡相关基因进而诱发激素性股骨头坏死[18]。张聿轲等人利用生物信息学方法获得了由四个激素性股骨头坏死中铁死亡相关基因 TXNIP、CISD2、GCLC 和 SETD1B 组成的预后模型。在小鼠 mc3T3-E1 细胞系中加入 DEX 以模拟激素刺激诱导的股骨头坏死。利用 qRT-PCR 来评估关键基因的 mRNA 表达水平。发现在 48 小时后, DEX 组中 TXNIP 的表达被上调, 而 CISD2 的表达被下调。在 DEX 组加入 Fer-1 后, TXNIP 和 SETD1B 的表达水平被下调, 而 CISD2 的表达在 24 小时后被上调, GCLC 的表达在 48 小时后被上调。确定了 CISD2、GCLC、TXNIP 和 SETD1B 作为激素性股骨头坏死的预后生物标志物, TXNIP 和 SETD1B 是铁死亡标志基因, CISD2 和 GCLC 是铁死亡抑制基因[33]。梁学振等人通过生物信息学分析, 筛选出 7 个 SONFH 中与铁死亡有关的基因, 包括 PTGS2, MAPK3, HMOX1, LR4, CYBB, MAP3K5 和 TSTAT3, 有望成为 SONFH 潜在的铁死亡相关诊断生物标志物。这些基因已在铁死亡或骨代谢疾病方面有过报道[34]。Huang X 等人通过生物信息学分析, 鉴定出 64 个激素性股骨头坏死中与铁死亡相关的差异基因。随后, 进行 KEGG 途径富集度分析, 共鉴定出 18 条通路, 包括铁死亡。筛选出 4 个与铁死亡相关的 HUB 基因 MAPK3、PTGS2、STK11 和 SLC2A1, 被认为可作为激素性股骨头坏死预后和诊断的潜在铁死亡相关生物标志物和药物靶点[35]。Lu H 等人利用 GSE123568 数据库, 应用多种生物信息学方法确定了一个包含两个铁死亡相关枢纽基因(FRHGs) NCF2 和 SLC2A1 的诊断标记。蛋白质 DIA 分析证实了这两个基因在正常和坏死区的差异表达。GO 和 KEGG 富集分析表明, FRHGs 在超氧阴离子和 HIF-1 信号通路中丰富。这些结果提示, FRHGs 可促进 SIONFH 的铁死亡, 这可能与增加超氧阴离子的产生和下调 HIF-1 信号通路有关。采集股骨头标本, 评估了 NCF2 和 SLC2A1 在标本中的 mRNA 表达, 证实了 NCF2 在健康区域的表达低于坏死区, 而 SLC2A1 的表达高于坏死区。这些结果提示, FRHGs 可促进 SIONFH 的铁死亡, 这可能与增加超氧阴离子的产生和下调 HIF-1 信号通路有关。细胞实验结果表明, 地塞米松干预 MC3T3-E1 细胞后, Gpx4 的表达减少, 而 TFR1 的表达增加, 提示地塞米松干预后铁死亡水平升高。同时, NCF2 的表达增加, 而 SLC2A1 的表达减少。抗氧化剂 VE (牡荆素 vitexin) 可以挽救激素诱导的 Gpx4 下调和 TFR1 上调, 同时减少 NCF2 的表达, 增加 SLC2A1 的表达。提示 VE 可能通过抑制铁死亡而挽救地塞米松诱导的成骨分化能力受损[36]。Liu J 等人通过生物信息学方法, 分析得出 AKT1S1、BACH1、MGST1 和 SETD1B 是 SONFH 的 4 个铁死亡关键相关基因, 它们通过破骨细胞分化和免疫机制在 SONFH 的发生发展中起关键作用。此外, 这 4 个基因均具有较好的疾病预测效果, 可作为诊断和治疗 SONFH 的生物标志物[37]。Chen N 等人通过生物信息学方法, 在 GIONFH 病例和非 GIONFH 对照的外周血样本之间共获得了 27 个与铁死亡相关的差异表达基因。KEGG 和 GO 通路富集分析显示, 与铁死亡相关的差异表达基因主要富集在调控凋亡过程、氧化还原过程和细胞氧化还原稳态, 以及 HIF-1、TNF、FoxO 信号通路和破骨细胞分化方面。确定了 8 个枢纽基因, 包括 TLR4、PTGS2、SNCA、MAPK1、CYBB、SLC2A1、TXNIP 和 MAP3K5。在数据集 GSE10311 中进一步验证了 TLR4、TXNIP 和 MAP3K5 的表达水平显著增加, 这三个基因可能作为 GIONFH 的潜在生物标志物和药物靶点[38]。

3. 激素性股骨头坏死中铁死亡相关基因在骨代谢及氧化应激方面的作用

关于上述提到的激素性股骨头坏死中的铁死亡相关基因,许多只是利用生物信息学方法分析得出的结果,仍需要体内和体外实验进一步验证这些铁死亡相关基因是否在激素性股骨头坏死的发生发展中发挥作用,及它们发生作用的机制。目前关于铁死亡在激素性股骨头作用的研究大多数都是通过细胞模型验证,缺乏动物实验研究。以下对上述提到的激素性股骨头坏死中铁死亡相关基因在骨代谢及氧化应激方面的作用做进一步介绍。

3.1. SLC7A11

P53 通过转录抑制 SLC7A11 使细胞对铁死亡敏感,抑制胱氨酸摄取并降低 GSH 水平[39]。System x-C 和 SLC7A11 在谷胱甘肽合成过程中是必不可少的。SLC7A11 的稳定性对铁死亡至关重要。当 SLC7A11 表达降低时,细胞中谷氨酸和胱氨酸的转运不平衡,GSH 的合成减少,导致细胞中 ROS 和脂质过氧化物水平升高,最终诱导铁死亡[40]。芒果苷(Mangiferin)通过 Keap1/Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路抑制成骨细胞铁死亡来减轻骨质疏松症[41]。Dex 处理后的成骨细胞、MP 处理后的 BMSC 及缺氧处理后的 HUVEC 细胞 GPX4 和 SLC7A11 表达水平降低,导致细胞铁死亡。而过表达 SIRT6、低表达 CA9、MT 和鹿角多肽治疗都能通过调节 SLC7A11/GPX4 轴抑制细胞铁死亡。

3.2. HIF1- α

骨量和血管的减少与成骨细胞中缺氧诱导因子 1 α (HIF1- α)缺失有关[42]。HIF1- α 通过无氧代谢促进软骨细胞发育[43]。MicroRNA-18a 通过 HIF1- α 调控肿瘤坏死因子- α 诱导的成骨细胞的焦亡、凋亡和坏死性凋亡[44]。由于缺乏 HIF1- α , 软骨形成和成骨受到影响[45]。

3.3. GDF15

GDF-15 在维持骨密度和骨量方面发挥作用[46]。GDF-15 水平和激素性股骨头坏死呈负相关。地塞米松通过抑制 GDF15/AKT/mTOR 信号传导通路,抑制 BMSCs 的增殖,诱导其凋亡。环状多肽 D7 通过激活 GDF15/AKT/mTOR 信号,减轻了地塞米松诱导的 BMSCs 损伤,并恢复 BMSCs 的软骨形成功能。此外,地塞米松诱导的过量活性氧(ROS)生成是 GDF15 介导的信号传导的上游触发因素,而环状多肽 D7 通过调节 GDF15 的表达,恢复了 SOD1 (超氧化物歧化酶 1)、SOD2 和过氧化氢酶等抗氧化剂的表达,从而改善了地塞米松诱导的氧化还原失衡[47]。

3.4. CA9

CA9 是 HIF-1 最典型的靶标之一,其启动子含有在缺氧期间增加转录的必需元件[48]。缺氧后碳酸酐酶 9 (CA9)表达增加[49]。在“二合一”纳米载体(NAHA-CaP/siRNA 纳米颗粒)中,碳酸酐酶 IX (CA9) siRNA 和 NO 清除剂的组合被开发用于通过清除 NO 和抑制滑膜巨噬细胞中的 CA9 表达来进行 OA (骨关节炎)治疗。体外实验表明,这些 NPs (纳米颗粒)可以显著清除与正常组相似的细胞内 NO 水平,并下调 CA9 mRNA 的表达水平,从而使 M1 巨噬细胞重新极化为 M2 表型,并提高促软骨形成因子 TGF- β 1 mRNA 的表达水平,抑制软骨细胞凋亡[50]。

3.5. TXNIP

TXNIP 通过影响细胞内氧化还原稳态和调节炎症来影响成骨细胞、软骨细胞和破骨细胞。此外, TXNIP 可用于预测多种骨代谢疾病,包括骨质疏松、类风湿性关节炎和骨关节炎。TXNIP 通过氧化还原依赖性和不依赖性途径影响骨代谢[51]。实验表明,敲除 TXNIP 刺激了 hBMSCs 和 MC3T3-E1 细胞中

PI3K/AKT/Nrf2 信号通路的激活,抑制了活性氧(ROS)产生。进一步的功能实验表明, TXNIP 的过表达通过增强 ROS 的产生来抑制 hBMSCs 和 MC3T3-E1 细胞的成骨分化。另一方面, 敲低 TXNIP 通过激活 PI3K/AKT/Nrf2 通路促进 hBMSCs 和 MC3T3-E1 细胞的成骨分化能力[52]。

3.6. Cisd2

Cisd2 下调通过调节野生型 P53 介导的 GLS2/SAT1/SLC7A11 和 Gpx4/TRF 信号通路参与人卵巢 SKOV-3 细胞的铁死亡过程。Cisd2 下调降低了 SKOV-3 细胞的 Gpx4 水平, 提高了 TRF 水平[53]。参与 shCisd2 介导的铁死亡的两种平行机制。一是 shCisd2 通过铁蛋白自噬 - 依赖性铁蛋白转运增强游离铁的积累; 另一种是 Cisd2 的耗竭诱导 p62-Keap1-NRF2 通路的抑制, 导致氧化应激和铁死亡[54]。

3.7. GCLC

地塞米松增加 ROS 水平, 降低了抗氧化酶 SOD、GSH-Px 和 CAT 的活性, 同时下调了 MC3T3-E1 细胞中抗氧化蛋白 Nrf2 及其下游蛋白 NQO-1、GCLC、HO-1 和 GCLM 的表达, 导致氧化应激。hUC-mSCs 通过上调 MC3T3-E1 细胞中的 Nrf2 蛋白表达及其下游蛋白 HO-1, NQO-1, GCLM 和 GCLC 的表达来减少 MC3T3-E1 细胞中的氧化应激[55]。甘草甜素(Glycyrrhizin)通过诱导 AMPK 磷酸化和 NRF2 的核转移, 减少破骨细胞中 ROS 的形成, 从而导致 HO-1、NQO-1 和 GCLC 等抗氧化酶的上调, 抑制 RANKL 诱导的破骨细胞生成[56]。

3.8. SETD1B

SETD1B 是一个铁死亡相关基因[57]。分枝杆菌毒素(Mycolactone)通过依赖 SETD1B 降解谷胱甘肽诱导细胞死亡[58]。

3.9. CYBB

细胞色素 b-245 重链(CYBB), 是促进活性氧类生成的 NADPH 氧化酶复合物的组成部分[59]。EDIL3 通过阻断 ITGAV-ITGB3 整联蛋白增强吞噬体中 SMPD1 的活性, 从而导致 CYBB 介导的 ROS 产生[60]。慢性肉芽肿病是一种遗传性免疫缺陷疾病(CGD), 主要由 X 连锁的 CYBB 基因突变引起, 这种突变会消除吞噬细胞和微生物防御系统中的活性氧类(ROS)产生[61]。

3.10. TLR4

TLR4 属于 Toll 样受体家族, 与多种炎症疾病有关[62]。TNF- α 增加 TLR4 的表达, 促进 PMOP (绝经后骨质疏松症)骨细胞坏死[63]。AEG-1 (Astrocyte-elevated gene-1)缺失可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路而改善骨质疏松过程中的软骨修复和骨重塑[64]。TLR4 基因敲除通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路减轻炎症并促进骨折愈合[65]。

3.11. PTGS2

小檗碱降低了 4-HNE、TF 和 PTGS2 的蛋白表达, 增强了 FTH 蛋白水平, 从而抑制了 HFFGD 喂养小鼠股骨的铁死亡, 也抑制 NAFLD 诱导的骨质流失甚至骨质疏松症[46]。Cd 和 Mo 联合暴露协同提高了心肌 Fe²⁺含量和活化的 AMPK/mTOR 轴, 然后通过明显上调 ACSL4、PTGS2 和 TFRC 表达水平, 下调 SLC7A11、GPX4、FPN1、FTL1 和 FTH1 表达水平诱导铁死亡[66]。

3.12. MAPK3

MAPK3 和相关的下游信号通路已被证明是骨质疏松症进展的重要调节因子。SP1 (Specific protein 1)通

过 miR-133a-3p/MAPK3 轴的转录介导加速了 BMSC 的成骨分化[67]。LrB (Loureirin B)减少了 MAPK 家族中 p-38 和 JNK 的磷酸化,抑制了 MAPK 的信号转导,影响了 BMMs 向破骨细胞的增殖和分化,并减少了骨吸收[68]。CXCL2 通过抑制成骨细胞 ERK1/2 (MAPK3/1)信号通路来减弱成骨细胞分化[69]。

3.13. HMOX1

Hmox1 调节骨折修复过程中成骨细胞的生成[70],增加间充质干细胞的成骨分化[71],表明 Hmox1 在骨发育和成骨分化中的作用[72]。鼠尾草酚(Carnosol)通过靶向 HMOX1 和上调体外抗氧化蛋白表达抑制破骨细胞的生成。同时发现鼠尾草酚通过抑制软骨下破骨细胞的活化减轻骨性关节炎的严重程度[73]。在成骨细胞中,鸢尾素(irisin)直接与 Cav1 结合,Cav1 招募并与 AMP 活化蛋白激酶 α (AMPK α)相互作用以激活 AMPK 途径,增加 HMOX1 转录,HMOX1 参与调节细胞周期,促进成骨细胞增殖[74]。Hmox1 可能通过调节 p38、ERK1/2、AKT、Wnt/ β -catenin 通路等多种信号通路来增强成骨分化[75]。

3.14. MAP3K5

细胞凋亡信号调节激酶 1 (ASK1)又称丝裂原活化蛋白激酶 5 (MAP3K5),人们认为 ASK1 对氧化应激高度敏感,并且对细胞凋亡起着重要作用[76]。研究表明,ASK1 参与细胞凋亡、炎症、氧化应激和其他过程。ASK1 在 MAPK 通路中起着重要作用,MAPK 通路具有多种生物学功能,在调节细胞增殖、分化和凋亡中发挥重要作用[77]。

3.15. STK11

肝激酶 b1 (LKB1,也称为 Stk11)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶。LKB1 缺陷增加了 Ctsk 骨膜细胞的增殖和成骨细胞分化[78]。Stk11/Lkb1 是抑制 mTOR 通路作用的关键丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶。在哺乳动物骨骼中,Stk11 调节未成熟软骨细胞和肥厚软骨细胞之间的过渡。成骨细胞内的 Stk11 活性对于正常结构骨的发育至关重要,它直接调节成骨细胞的数量和协调作用,间接调节破骨细胞的数量[79]。

3.16. NCF2

NCF2 是 NADPH 氧化酶的重要活化亚基之一,在 NADPH 氧化酶的生物学功能中起着不可替代的作用[80]。ROS 水平和 NRF2 活性在成骨过程中增加。NRF2 驱动骨细胞特异性并激活骨细胞特异性基因的转录。骨细胞中的 NRF2 在骨稳态中具有基础作用,其缺失诱导骨量减少。利用富马酸二甲酯激活 NRF2 可预防卵巢切除术引起的骨质减少[81]。

3.17. AKT1S1

AKT1S1 作为 mTORC1 的负调控因子,可能是细胞生长和增殖的抑制因子[82]。作为 Akt1 和 mTOR 复合物 1 的底物,AKT1S1 在 Akt/mTOR 信号通路中发挥着调控多种生物过程的关键作用[83]。越来越多的研究表明,沉默 AKT1S1 可增加细胞凋亡、降低细胞活力并减少多种癌症的肿瘤发展[84]。

3.18. BACH1

细胞具有针对 ROS 的保护机制,例如 Nrf2,它控制许多抗氧化酶基因的表达。相反,BTB 和 CNC 同源性 1 (BACH1)是 Nrf2 的竞争对手,转录抑制抗氧化酶的表达。BACH1 抑制剂通过诱导 Nrf2 调节的抗氧化酶的表达来减弱小鼠 RANKL 介导的破骨细胞生成和骨破坏,从而降低细胞内 ROS 水平[85]。BACH1 已被证明可以调控铁死亡[86]。敲低 Bach1 减轻了炎症诱导的氧化应激水平,部分抵消了炎症条件对成骨的抑制作用,以及促进成骨基因 BMP6、OPG 和 RUNX2 的表达。敲低 BACH1 可有效挽救具有

炎症的 PDLCS 的成骨和氧化应激[87]。

3.19. MGST1

微粒体谷胱甘肽转移酶 1 (MGST1)是 MAPEG 家族(类二十烷和谷胱甘肽代谢中的膜相关蛋白)的成员。MGST1 具有谷胱甘肽转移酶和过氧化物酶活性[88]。MGST1 敲低显著抑制 GC (Gastric Cancer)细胞增殖和通过调节 AKT/GSK-3 β / β -连环蛋白轴来调节细胞周期。此外,我们发现 MGST1 抑制 GC 细胞中的铁死亡[89]。

3.20. SNCA

SNCA 已被证明与破骨细胞生成和骨吸收相关,通过与骨形态发生蛋白通路相互作用并调节雌激素缺乏诱导的骨质流失[90]。大量证据表明,点突变和 SNCA 表达增加导致其聚集,这促进了线粒体功能障碍和氧化应激[91]。缺乏 SNCA 的小鼠,观察到 OVX 诱导的骨质流失减少 40% [92]。

3.21. MAPK1

富含 miR-92a-1-5p 的 EV (extracellular vesicles)通过减少 MAPK1 和 FoxO1 表达来促进体外破骨细胞分化,与破骨细胞功能增加有关。靶向 MAPK1 或 FoxO1 的 siRNA 导致破骨细胞功能的相似增加。在体内,通过静脉注射给予的富含 miR-92a-1-5p 的 EV 促进骨溶解,这与骨髓中 MAPK1 和 FoxO1 表达的降低有关[93]。miR-186-5p 可通过增加 MAPK1 的表达减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞炎症损伤[94]。

3.22. STAT3

STAT3 是 STAT 蛋白家族的成员,在介导炎症方面发挥关键作用。来自 OA 患者和 OA 小鼠模型的标本中磷酸化 STAT3 表达水平升高,表明 STAT3 参与了 OA 的进展。在由 IL-1 β 诱导的软骨细胞炎症模型中的细胞水平的其他研究证实,STX-0119 通过抑制 STAT3 磷酸化及其核易位而抑制软骨细胞中的炎症反应,同时促进软骨细胞的合成代谢[95]。STAT3 和 sFRP1 的抑制作用消除了 IL-19 对骨髓间充质干细胞成骨分化的抑制作用[96]。LncRNA SNHG1 调节 STAT3 磷酸化,降低 ROS 水平,调节线粒体能量代谢,最终促进软骨再生[97]。

3.23. SLC2A1

在 SLC2A1 缺陷的小鼠中,Wnt7b 诱导的骨合成代谢功能被阻断,骨形成受到影响[98]。实验证实 SLC2A1 在 SONFH 患者的外周血以及激素性骨坏死样品中显著下调[99]。SLC2A1 可能是 SONFH 潜在的诊断性生物标志物[100]。

4. 总结与展望

铁死亡与激素性股骨头坏死的相关机制尚不明确。许多通过生物信息学筛选出的铁死亡相关基因是否在激素性股骨头坏死中发挥作用,以及它们如何发挥作用仍然不清。研究铁死亡在激素性股骨头坏死的作用机制,通过调控铁死亡相关通路抑制铁死亡发生,有利于对抗激素性股骨头坏死的发生发展。

致 谢

感谢本次科研及论文写作过程中导师及同事的指导和大力支持。

参考文献

- [1] Barney, J., Piuze, N.S. and Akhondi, H. (2023) Femoral Head Avascular Necrosis. StatPearls.

- [2] Tan, B., Li, W., Zeng, P., Guo, H., Huang, Z., Fu, F., *et al.* (2020) Epidemiological Study Based on China Osteonecrosis of the Femoral Head Database. *Orthopaedic Surgery*, **13**, 153-160. <https://doi.org/10.1111/os.12857>
- [3] Zhang, Q., Li, Z., Gao, F. and Sun, W. (2018) Pericollapse Stage of Osteonecrosis of the Femoral Head: A Last Chance for Joint Preservation. *Chinese Medical Journal*, **131**, 2589-2598. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.244111>
- [4] Bai, R., Feng, W., Liu, W.L., Zhao, Z.H.Q., Zhao, A.Q., Wang, Y., *et al.* (2016) Roles of Osteocyte Apoptosis in Steroid-Induced Avascular Necrosis of the Femoral Head. *Genetics and Molecular Research*, **15**, gmr.15017529. <https://doi.org/10.4238/gmr.15017529>
- [5] Chang, C., Greenspan, A. and Gershwin, M.E. (2020) The Pathogenesis, Diagnosis and Clinical Manifestations of Steroid-Induced Osteonecrosis. *Journal of Autoimmunity*, **110**, Article ID: 102460. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102460>
- [6] Zhu, S., Zhuang, J., Wu, Q., Liu, Z., Liao, C., Luo, S., *et al.* (2018) Advanced Oxidation Protein Products Induce Pre-osteoblast Apoptosis through a Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase-Dependent, Mitogen-Activated Protein Kinases-Mediated Intrinsic Apoptosis Pathway. *Aging Cell*, **17**, e12764. <https://doi.org/10.1111/acer.12764>
- [7] 章喻, 王利波, 戴薇薇. 糖皮质激素与铁死亡[J]. 生理科学进展, 2022, 53(1): 76-81.
- [8] Zheng, H., Jiang, J., Xu, S., Liu, W., Xie, Q., Cai, X., *et al.* (2021) Nanoparticle-Induced Ferroptosis: Detection Methods, Mechanisms and Applications. *Nanoscale*, **13**, 2266-2285. <https://doi.org/10.1039/d0nr08478f>
- [9] Hassannia, B., Van Coillie, S. and Vanden Berghe, T. (2021) Ferroptosis: Biological Rust of Lipid Membranes. *Antioxidants & Redox Signaling*, **35**, 487-509. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8175>
- [10] Li, J., Cao, F., Yin, H., Huang, Z., Lin, Z., Mao, N., *et al.* (2020) Ferroptosis: Past, Present and Future. *Cell Death & Disease*, **11**, Article No. 88. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2298-2>
- [11] Battaglia, A.M., Chirillo, R., Aversa, I., Sacco, A., Costanzo, F. and Biamonte, F. (2020) Ferroptosis and Cancer: Mitochondria Meet the “Iron Maiden” Cell Death. *Cells*, **9**, Article 1505. <https://doi.org/10.3390/cells9061505>
- [12] Bannai, S. and Kitamura, E. (1980) Transport Interaction of L-Cystine and L-Glutamate in Human Diploid Fibroblasts in Culture. *Journal of Biological Chemistry*, **255**, 2372-2376. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)85901-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)85901-x)
- [13] Dolma, S., Lessnick, S.L., Hahn, W.C. and Stockwell, B.R. (2003) Identification of Genotype-Selective Antitumor Agents Using Synthetic Lethal Chemical Screening in Engineered Human Tumor Cells. *Cancer Cell*, **3**, 285-296. [https://doi.org/10.1016/s1535-6108\(03\)00050-3](https://doi.org/10.1016/s1535-6108(03)00050-3)
- [14] Yang, W.S. and Stockwell, B.R. (2008) Synthetic Lethal Screening Identifies Compounds Activating Iron-Dependent, Nonapoptotic Cell Death in Oncogenic-Ras-Harboring Cancer Cells. *Chemistry & Biology*, **15**, 234-245. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2008.02.010>
- [15] Dixon, S.J., Lemberg, K.M., Lamprecht, M.R., Skouta, R., Zaitsev, E.M., Gleason, C.E., *et al.* (2012) Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death. *Cell*, **149**, 1060-1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- [16] Chen, H., Han, Z., Wang, Y., Su, J., Lin, Y., Cheng, X., *et al.* (2023) Targeting Ferroptosis in Bone-Related Diseases: Facts and Perspectives. *Journal of Inflammation Research*, **16**, 4661-4677. <https://doi.org/10.2147/jir.s432111>
- [17] Jing, X., Du, T., Yang, X., Zhang, W., Wang, G., Liu, X., *et al.* (2020) Desferoxamine Protects against Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head via Activating HIF-1 α Expression. *Journal of Cellular Physiology*, **235**, 9864-9875. <https://doi.org/10.1002/jcp.29799>
- [18] 陶红成, 曾平, 刘金富, 等. 三七总皂苷调控破骨细胞分泌体中差异 miRNA 表达抑制成骨细胞铁死亡[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(19): 4011-4021. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1581.R.20240508.1000.014.html>
- [19] Sun, F., Zhou, J.L., Liu, Z.L., Jiang, Z.W. and Peng, H. (2022) Dexamethasone Induces Ferroptosis via P53/SLC7A11/GPX4 Pathway in Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **602**, 149-155. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2022.02.112>
- [20] Zhang, Y., Hu, K., Shang, Z., Yang, X. and Cao, L. (2024) Ferroptosis: Regulatory Mechanisms and Potential Targets for Bone Metabolism: A Review. *Medicine (Baltimore)*, **103**, e39158. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000039158>
- [21] Yang, W.S., SriRamaratnam, R., Welsch, M.E., Shimada, K., Skouta, R., Viswanathan, V.S., *et al.* (2014) Regulation of Ferroptotic Cancer Cell Death by GPX4. *Cell*, **156**, 317-331. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.010>
- [22] Jia, M., Qin, D., Zhao, C., Chai, L., Yu, Z., Wang, W., *et al.* (2020) Redox Homeostasis Maintained by GPX4 Facilitates STING Activation. *Nature Immunology*, **21**, 727-735. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0699-0>
- [23] 章家皓, 刘予豪, 周驰, 等. 氧化应激促进成骨细胞铁死亡介导激素性股骨头坏死的病理过程[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(20): 3202-3208.
- [24] 郑嘉乾. 股骨头 GPX4 含量及人参皂苷 Rg3 调控 GPX4 对 MSCs 成骨分化的影响[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2021.

- [25] 张绵钰, 韩杰, 曾浩, 等. 中药调控成骨细胞铁死亡治疗激素性股骨头坏死[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(1): 185-192.
- [26] Khan, R.I., Nirzhor, S.S.R. and Akter, R. (2018) A Review of the Recent Advances Made with SIRT6 and Its Implications on Aging Related Processes, Major Human Diseases, and Possible Therapeutic Targets. *Biomolecules*, **8**, Article 44. <https://doi.org/10.3390/biom8030044>
- [27] Fang, L., Zhang, G., Wu, Y., Li, Z., Gao, S. and Zhou, L. (2022) SIRT6 Prevents Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head in Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2022**, Article ID: 6360133. <https://doi.org/10.1155/2022/6360133>
- [28] Li, W., Zhang, W., Sun, H., Li, W., Qin, Y., Wang, L., et al. (2023) Harmine Ameliorates Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head by Modulating Metabolism and Ferroptosis via HIF1- α . *Fundamental Research*. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.08.015>
- [29] Cipolla-Neto, J. and Amaral, F.G.D. (2018) Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocrine Reviews*, **39**, 990-1028. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00084>
- [30] Li, W., Li, W., Zhang, W., Wang, H., Yu, L., Yang, P., et al. (2023) Exogenous Melatonin Ameliorates Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head by Modulating Ferroptosis through GDF15-Mediated Signaling. *Stem Cell Research & Therapy*, **14**, Article No. 171. <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03371-y>
- [31] 余鹏, 孟东方, 李慧英, 等. CA9 作为激素性股骨头坏死中软骨铁死亡特征基因的生物信息学鉴定[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(27): 4293-4299.
- [32] 邵学坤, 王成, 王仪, 等. 鹿角多肽调控 SLC7A11/GPX4 轴抑制地塞米松诱导的成骨细胞铁死亡[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(14): 2875-2881.
- [33] 张聿轲. 激素性股骨头坏死中铁死亡靶点基因模型的筛选与验证研究[D]: [硕士学位论文]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2023.
- [34] 梁学振, 骆帝, 李嘉程, 等. 激素性股骨头坏死中的 PTGS2 和 STAT3: 潜在铁死亡相关诊断生物标志物[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(36): 5898-5904.
- [35] Huang, X., Meng, H., Shou, Z., Zhou, H., Chen, L., Yu, J., et al. (2024) Machine Learning-Mediated Identification of Ferroptosis-Related Genes in Osteonecrosis of the Femoral Head. *FEBS Open Bio*, **14**, 455-465. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13764>
- [36] Lu, H., Fan, Y., Yan, Q., Chen, Z., Wei, Z., Liu, Y., et al. (2023) Identification and Validation of Ferroptosis-Related Biomarkers in Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head. *International Immunopharmacology*, **124**, Article ID: 110906. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.110906>
- [37] Liu, J., Han, X., Qu, L. and Du, B. (2023) Identification of Key Ferroptosis-Related Biomarkers in Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head Based on Machine Learning. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, **18**, Article No. 327. <https://doi.org/10.1186/s13018-023-03800-x>
- [38] Chen, N., Meng, Y., Zhan, H. and Li, G. (2023) Identification and Validation of Potential Ferroptosis-Related Genes in Glucocorticoid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head. *Medicina*, **59**, Article 297. <https://doi.org/10.3390/medicina59020297>
- [39] Luo, Y., Gao, X., Zou, L., Lei, M., Feng, J. and Hu, Z. (2021) Bavachin Induces Ferroptosis through the STAT3/P53/SLC7A11 Axis in Osteosarcoma Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2021**, Article ID: 1783485. <https://doi.org/10.1155/2021/1783485>
- [40] Wang, C., Liu, H., Xu, S., Deng, Y., Xu, B., Yang, T., et al. (2023) Ferroptosis and Neurodegenerative Diseases: Insights into the Regulatory Roles of SLC7A11. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **43**, 2627-2642. <https://doi.org/10.1007/s10571-023-01343-7>
- [41] Deng, X., Lin, B., Wang, F., Xu, P. and Wang, N. (2024) Mangiferin Attenuates Osteoporosis by Inhibiting Osteoblastic Ferroptosis through Keap1/Nrf2/SLC7A11/GPX4 Pathway. *Phytomedicine*, **124**, Article ID: 155282. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155282>
- [42] Schipani, E., Ryan, H.E., Didrickson, S., Kobayashi, T., Knight, M. and Johnson, R.S. (2001) Hypoxia in Cartilage: HIF-1 α Is Essential for Chondrocyte Growth Arrest and Survival. *Genes & Development*, **15**, 2865-2876. <https://doi.org/10.1101/gad.934301>
- [43] Bentovim, L., Amarilio, R. and Zelzer, E. (2012) HIF1 α Is a Central Regulator of Collagen Hydroxylation and Secretion under Hypoxia during Bone Development. *Development*, **139**, 4473-4483. <https://doi.org/10.1242/dev.083881>
- [44] Zhang, W., Xia, C., Qu, Y., Li, J., Liu, J., Ou, S., et al. (2024) MicroRNA-18a Regulates the Pyroptosis, Apoptosis, and Necroptosis (PANoptosis) of Osteoblasts Induced by Tumor Necrosis Factor- α via Hypoxia-Inducible Factor-1 α . *International Immunopharmacology*, **128**, Article ID: 111453. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2023.111453>

- [45] Yang, S., Kim, J., Ryu, J., Oh, H., Chun, C., Kim, B.J., *et al.* (2010) Hypoxia-Inducible Factor-2 α Is a Catabolic Regulator of Osteoarthritic Cartilage Destruction. *Nature Medicine*, **16**, 687-693. <https://doi.org/10.1038/nm.2153>
- [46] Hong, S.W. and Kang, J. (2022) Growth Differentiation Factor-15 as a Modulator of Bone and Muscle Metabolism. *Frontiers in Endocrinology*, **13**, Article 948176. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.948176>
- [47] Chen, J., Cui, Z., Wang, Y., Lyu, L., Feng, C., Feng, D., *et al.* (2022) Cyclic Polypeptide D7 Protects Bone Marrow Mesenchymal Cells and Promotes Chondrogenesis during Osteonecrosis of the Femoral Head via Growth Differentiation Factor 15-Mediated Redox Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2022**, Article ID: 3182368. <https://doi.org/10.1155/2022/3182368>
- [48] Wykoff, C.C., Beasley, N.J., Watson, P.H., *et al.* (2000) Hypoxia-Inducible Expression of Tumor-Associated Carbonic Anhydrases. *Cancer Research*, **60**, 7075-7083.
- [49] Marchini Armentano, G., Pieretti, J.C., Falconi, C.A., Barozzi Seabra, A. and Carneiro-Ramos, M.S. (2024) Nitric Oxide Plays a Dual Role in Cardiorenal Syndrome in Vitro Model. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **58**, 33-48. <https://doi.org/10.33594/000000681>
- [50] Yan, Y., Lu, A., Dou, Y., Zhang, Z., Wang, X., Zhai, L., *et al.* (2023) Nanomedicines Reprogram Synovial Macrophages by Scavenging Nitric Oxide and Silencing CA9 in Progressive Osteoarthritis. *Advanced Science*, **10**, e2207490. <https://doi.org/10.1002/adv.202207490>
- [51] Jiang, N., Liu, J., Guan, C., Ma, C., An, J. and Tang, X. (2022) Thioredoxin-Interacting Protein: A New Therapeutic Target in Bone Metabolism Disorders? *Frontiers in Immunology*, **13**, Article 955128. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.955128>
- [52] Zhou, W., Zhu, C. and Zhou, F. (2024) TXNIP Mediated by EZH2 Regulated Osteogenic Differentiation in Hbmscs and MC3T3-E1 Cells through the Modulation of Oxidative Stress and PI3K/AKT/Nrf2 Pathway. *Connective Tissue Research*, **65**, 293-303. <https://doi.org/10.1080/03008207.2024.2358361>
- [53] Wang, Y. and Yi, Y. (2024) Cisd2 Downregulation Participates in the Ferroptosis Process of Human Ovarian SKOV-3 Cells through Modulating the Wild Type P53-Mediated GLS2/SAT1/SLC7A11 and Gpx4/TRF Signaling Pathway. *Tissue and Cell*, **89**, Article ID: 102458. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2024.102458>
- [54] Li, Y., Xu, B., Ren, X., Wang, L., Xu, Y., Zhao, Y., *et al.* (2022) Inhibition of Cisd2 Promotes Ferroptosis through Ferritinophagy-Mediated Ferritin Turnover and Regulation of p62-Keap1-NRF2 Pathway. *Cellular & Molecular Biology Letters*, **27**, Article No. 81. <https://doi.org/10.1186/s11658-022-00383-z>
- [55] Qiu, C., Li, Z. and Peng, P. (2024) Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Protect MC3T3-E1 Osteoblasts from Dexamethasone-Induced Apoptosis via Induction of the NRF2-Are Signaling Pathway. *Regenerative Therapy*, **27**, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2024.02.009>
- [56] Li, Z., Chen, C., Zhu, X., Li, Y., Yu, R. and Xu, W. (2018) Glycyrrhizin Suppresses Rankl-Induced Osteoclastogenesis and Oxidative Stress through Inhibiting NF- κ B and MAPK and Activating AMPK/Nrf2. *Calcified Tissue International*, **103**, 324-337. <https://doi.org/10.1007/s00223-018-0425-1>
- [57] Choi, Y.J., Oh, H.R., Choi, M.R., Gwak, M., An, C.H., Chung, Y.J., *et al.* (2014) Frameshift Mutation of a Histone Methylation-Related Gene SETD1B and Its Regional Heterogeneity in Gastric and Colorectal Cancers with High Microsatellite Instability. *Human Pathology*, **45**, 1674-1681. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2014.04.013>
- [58] Förster, B., Demangel, C. and Thye, T. (2020) Mycolactone Induces Cell Death by SETD1B-Dependent Degradation of Glutathione. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, **14**, e0008709. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008709>
- [59] Gawargi, F.I. and Mishra, P.K. (2024) Regulation of Cardiac Ferroptosis in Diabetic Human Heart Failure: Uncovering Molecular Pathways and Key Targets. *Cell Death Discovery*, **10**, Article No. 268. <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02044-w>
- [60] Yin, Z., Zhang, J., Zhao, M., *et al.* (2024) EDIL3/Del-1 Prevents Aortic Dissection through Enhancing Internalization and Degradation of Apoptotic Vascular Smooth Muscle Cells. *Autophagy*, **20**, 2405-2425.
- [61] Sevim-Wunderlich, S., Dang, T., Rossius, J., Schnütgen, F. and Kühn, R. (2024) A Mouse Model of X-Linked Chronic Granulomatous Disease for the Development of Crispr/cas9 Gene Therapy. *Genes*, **15**, Article 706. <https://doi.org/10.3390/genes15060706>
- [62] Ciesielska, A., Matyjek, M. and Kwiatkowska, K. (2020) TLR4 and CD14 Trafficking and Its Influence on LPS-Induced Pro-Inflammatory Signaling. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **78**, 1233-1261. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y>
- [63] Cui, H., Li, J., Li, X., Su, T., Wen, P., Wang, C., *et al.* (2024) TNF- α Promotes Osteocyte Necroptosis by Upregulating TLR4 in Postmenopausal Osteoporosis. *Bone*, **182**, Article ID: 117050. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2024.117050>
- [64] Zhang, Y. and Zhao, Q. (2020) AEG-1 Deletion Promotes Cartilage Repair and Modulates Bone Remodeling-Related Cytokines via TLR4/MyD88/NF- κ B Inhibition in Ovariectomized Rats with Osteoporosis. *Annals of Translational Medicine*, **8**, 1298-1298. <https://doi.org/10.21037/atm-20-5842>

- [65] Zhao, C., Yu, T., Dou, Q., Guo, Y., Yang, X. and Chen, Y. (2020) Knockout of TLR4 Promotes Fracture Healing by Activating Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Pathology—Research and Practice*, **216**, Article ID: 152766. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2019.152766>
- [66] Huang, B., Nie, G., Dai, X., Cui, T., Pu, W. and Zhang, C. (2024) Environmentally Relevant Levels of Cd and Mo Coexposure Induces Ferroptosis and Excess Ferritinophagy through AMPK/mTOR Axis in Duck Myocardium. *Environmental Toxicology*, **39**, 4196-4206. <https://doi.org/10.1002/tox.24302>
- [67] Zhong, L., Sun, Y., Wang, C., Liu, R., Ru, W., Dai, W., et al. (2024) SP1 Regulates BMSC Osteogenic Differentiation through the miR-133a-3p/MAPK3 Axis: SP1 Regulates Osteogenic Differentiation of BMSCs. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, **19**, Article No. 396. <https://doi.org/10.1186/s13018-024-04889-4>
- [68] Zhang, J., Mo, L., Huang, H., Xu, J., Fan, Y., Li, W., et al. (2022) Loureirin B Downregulates Osteoclast Differentiation of Bone Marrow Macrophages by Targeting the MAPK Signaling Pathway. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 14382. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18287-5>
- [69] Yang, Y., Zhou, X., Li, Y., Chen, A., Liang, W., Liang, G., et al. (2019) CXCL2 Attenuates Osteoblast Differentiation by Inhibiting the ERK1/2 Signaling Pathway. *Journal of Cell Science*, **132**, jcs230490. <https://doi.org/10.1242/jcs.230490>
- [70] Ma, T., Chen, T., Li, P., Ye, Z., Zhai, W., Jia, L., et al. (2016) Heme Oxygenase-1 (HO-1) Protects Human Lens Epithelial Cells (SRA01/04) against Hydrogen Peroxide (H₂O₂)-Induced Oxidative Stress and Apoptosis. *Experimental Eye Research*, **146**, 318-329. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.02.013>
- [71] Zwerina, J., Tzima, S., Hayer, S., Redlich, K., Hoffmann, O., Hanslik-Schnabel, B., et al. (2005) Heme Oxygenase 1 (HO-1) Regulates Osteoclastogenesis and Bone Resorption. *The FASEB Journal*, **19**, 2011-2013. <https://doi.org/10.1096/fj.05-4278fje>
- [72] Barbagallo, I., Vanella, A., Peterson, S.J., Kim, D.H., Tibullo, D., Giallongo, C., et al. (2009) Overexpression of Heme Oxygenase-1 Increases Human Osteoblast Stem Cell Differentiation. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, **28**, 276-288. <https://doi.org/10.1007/s00774-009-0134-y>
- [73] Chu, M., Chen, G., Chen, K., Zhu, P., Wang, Z., Qian, Z., et al. (2024) Heme Oxygenase 1 Linked to Inactivation of Subchondral Osteoclasts in Osteoarthritis. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, **25**, 513-528. <https://doi.org/10.1631/jzus.b2300303>
- [74] Tao, L., Wang, J., Wang, K., Liu, Q., Li, H., Xu, S., et al. (2024) Exerkine FNDC5/Irisin-Enriched Exosomes Promote Proliferation and Inhibit Ferroptosis of Osteoblasts through Interaction with Caveolin-1. *Aging Cell*, **23**, e14181. <https://doi.org/10.1111/acer.14181>
- [75] Liu, X., Ji, C., Xu, L., Yu, T., Dong, C. and Luo, J. (2018) Hmox1 Promotes Osteogenic Differentiation at the Expense of Reduced Adipogenic Differentiation Induced by BMP9 in C3H10T1/2 Cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 5503-5516. <https://doi.org/10.1002/jcb.26714>
- [76] Sakauchi, C., Wakatsuki, H., Ichijo, H. and Hattori, K. (2017) Pleiotropic Properties of ASK1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—General Subjects*, **1861**, 3030-3038. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.09.028>
- [77] Lu, Y., Liu, Y. and Zheng, M. (2022) The Role and Regulation of Apoptosis Signal-Regulated Kinase 1 in Liver Disease. *Molecular Biology Reports*, **49**, 10905-10914. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07783-6>
- [78] Han, Y., Feng, H., Sun, J., Liang, X., Wang, Z., Xing, W., et al. (2019) Lkb1 Deletion in Periosteal Mesenchymal Progenitors Induces Osteogenic Tumors through Mtorc1 Activation. *Journal of Clinical Investigation*, **129**, 1895-1909. <https://doi.org/10.1172/jci124590>
- [79] Lai, L.P., Lotinun, S., Bouxsein, M.L., Baron, R. and McMahon, A.P. (2014) Stk11 (Lkb1) Deletion in the Osteoblast Lineage Leads to High Bone Turnover, Increased Trabecular Bone Density and Cortical Porosity. *Bone*, **69**, 98-108. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2014.09.010>
- [80] Xie, J., Zhang, H., Wang, K., Ni, J., Ma, X., Khoury, C.J., et al. (2023) M6A-Mediated-Upregulation of lncRNA BLACAT3 Promotes Bladder Cancer Angiogenesis and Hematogenous Metastasis through YBX3 Nuclear Shuttling and Enhancing NCF2 Transcription. *Oncogene*, **42**, 2956-2970. <https://doi.org/10.1038/s41388-023-02814-3>
- [81] Sánchez-de-Diego, C., Pedrazza, L., Pimenta-Lopes, C., Martinez-Martinez, A., Dahdah, N., Valer, J.A., et al. (2021) NRF2 Function in Osteocytes Is Required for Bone Homeostasis and Drives Osteocytic Gene Expression. *Redox Biology*, **40**, Article ID: 101845. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101845>
- [82] Ma, Y., Feng, J., Xing, X., Zhou, B., Li, S., Zhang, W., et al. (2016) miR-1908 Overexpression Inhibits Proliferation, Changing Akt Activity and P53 Expression in Hypoxic NSCLC Cells. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, **24**, 9-15. <https://doi.org/10.3727/096504016x14570992647168>
- [83] Wiza, C., Nascimento, E.B.M. and Ouwens, D.M. (2012) Role of PRAS40 in Akt and mTOR Signaling in Health and Disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, **302**, E1453-E1460. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00660.2011>

- [84] Malla, R., Ashby, C.R., Narayanan, N.K., Narayanan, B., Faridi, J.S. and Tiwari, A.K. (2015) Proline-Rich AKT Substrate of 40-kDa (PRAS40) in the Pathophysiology of Cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **463**, 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.05.041>
- [85] He, X., Wang, D., Yi, Y., Tan, Y., Wu, M., Wang, H., et al. (2023) δ -Tocotrienol Preconditioning Improves the Capability of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells in Promoting Wound Healing by Inhibiting BACH1-Related Ferroptosis. *Cell Death Discovery*, **9**, Article No. 349. <https://doi.org/10.1038/s41420-023-01653-1>
- [86] Wada, S., Kanzaki, H., Katsumata, Y., Yamaguchi, Y., Narimiya, T., Attucks, O.C., et al. (2020) Bach1 Inhibition Suppresses Osteoclastogenesis via Reduction of the Signaling via Reactive Oxygen Species by Reinforced Antioxidation. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**, Article 740. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00740>
- [87] Yuan, Z., Li, J., Zou, X., Liu, C., Lu, J., Ni, C., et al. (2023) Knockdown of Bach1 Protects Periodontal Bone Regeneration from Inflammatory Damage. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **27**, 3465-3477. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17916>
- [88] Zhang, J., Ye, Z., Morgenstern, R., Townsend, D.M. and Tew, K.D. (2023) Mitochondrial Glutathione Transferase 1 in Cancer and the Regulation of Ferroptosis. *Advances in Cancer Research*, **160**, 107-132. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2023.05.001>
- [89] Li, Y., Xu, X., Wang, X., Zhang, C., Hu, A. and Li, Y. (2023) MGST1 Expression Is Associated with Poor Prognosis, Enhancing the Wnt/ β -Catenin Pathway via Regulating AKT and Inhibiting Ferroptosis in Gastric Cancer. *ACS Omega*, **8**, 23683-23694. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01782>
- [90] Jain, P., Karthikeyan, C., Moorthy, N.S., Waiker, D., Jain, A. and Trivedi, P. (2014) Human Cdc2-Like Kinase 1 (CLK1): A Novel Target for Alzheimer's Disease. *Current Drug Targets*, **15**, 539-550. <https://doi.org/10.2174/1389450115666140226112321>
- [91] Mullin, S. and Schapira, A. (2013) A-Synuclein and Mitochondrial Dysfunction in Parkinson's Disease. *Molecular Neurobiology*, **47**, 587-597. <https://doi.org/10.1007/s12035-013-8394-x>
- [92] Calabrese, G., Mesner, L.D., Foley, P.L., Rosen, C.J. and Farber, C.R. (2016) Network Analysis Implicates α -Synuclein (Snca) in the Regulation of Ovariectomy-Induced Bone Loss. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 29475. <https://doi.org/10.1038/srep29475>
- [93] Yu, L., Sui, B., Zhang, X., Liu, J., Hao, X. and Zheng, L. (2023) miR-92a-1-5p Enriched Prostate Cancer Extracellular Vesicles Regulate Osteoclast Function via MAPK1 and FoxO1. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **42**, Article No. 109. <https://doi.org/10.1186/s13046-023-02685-2>
- [94] Li, Q., Wu, M., Fang, G., Li, K., Cui, W., Li, L., et al. (2021) MicroRNA-186-5p Downregulation Inhibits Osteoarthritis Development by Targeting MAPK1. *Molecular Medicine Reports*, **23**, Article No. 253. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.11892>
- [95] Lu, X., Xu, Y., Li, X., Wang, J., Wang, L., Hu, X., et al. (2024) Selective STAT3 Inhibitor STX-0119 Alleviates Osteoarthritis Progression by Modulating the STAT3/PPAR γ Signaling Pathway. *Biochemical Pharmacology*, **227**, Article ID: 116420. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2024.116420>
- [96] He, E., Sui, H., Wang, H., Zhao, X., Guo, W., Dai, Z., et al. (2024) Interleukin-19 in Bone Marrow Contributes to Bone Loss via Suppressing Osteogenic Differentiation Potential of BMSCs in Old Mice. *Stem Cell Reviews and Reports*, **20**, 1311-1324. <https://doi.org/10.1007/s12015-024-10709-3>
- [97] Liu, H., Liu, H., Yang, Q. and Fan, Z. (2024) LncRNA SNHG1 Enhances Cartilage Regeneration by Modulating Chondrogenic Differentiation and Angiogenesis Potentials of JBMMSCs via Mitochondrial Function Regulation. *Stem Cell Research & Therapy*, **15**, Article No. 177. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03793-2>
- [98] Chen, H., Ji, X., Lee, W., Shi, Y., Li, B., Abel, D., et al. (2019) Increased Glycolysis Mediates Wnt7b-Induced Bone Formation. *The FASEB Journal*, **33**, 7810-7821. <https://doi.org/10.1096/fj.201900201rr>
- [99] Qi, B., Li, C., Cai, X., Pu, L., Guo, M., Tang, Z., et al. (2023) Bioinformatics-Based Analysis of Key Genes in Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head That Are Associated with Copper Metabolism. *Biomedicines*, **11**, Article 873. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030873>
- [100] Wu, Z., Wen, Y., Fan, G., He, H., Zhou, S. and Chen, L. (2021) HEMGN and SLC2A1 Might Be Potential Diagnostic Biomarkers of Steroid-Induced Osteonecrosis of Femoral Head: Study Based on WGCNA and DEGs Screening. *BMC Musculoskeletal Disorders*, **22**, Article No. 85. <https://doi.org/10.1186/s12891-021-03958-7>