

· 论 著 ·

# 基于网络药理学探讨黄芪治疗骨质疏松症的分子机制

韩林静<sup>1</sup> 吴克亮<sup>1</sup> 王宏波<sup>2</sup> 肖庆华<sup>2</sup> 张震<sup>2</sup> 朱建宗<sup>2</sup> 林晓生<sup>2\*</sup>

1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

2. 深圳宝安第二人民医院(集团)总医院, 广东 深圳 518104

中图分类号: R274.9 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 08-1119-07

**摘要:** **目的** 基于网络药理学方法探讨黄芪治疗骨质疏松症的潜在作用机制。**方法** 通过 TCMSP 数据库进行黄芪潜在化学成分获取和靶点预测, 运用 GeneCards 及 OMIM 数据库预测筛选与骨质疏松症相关的基因, 采用 R 软件进行药物靶点与疾病靶点映射匹配。通过 Cytoscape 软件进行药物-成分-靶点-疾病可视化网络建立, 借助 String 数据库在线平台进行蛋白互作网络构建, 采用 DAVID 数据库进行生物过程及通路注释。**结果** 通过筛选共得到黄芪主要化合物 20 种, 药物靶点 218 个, 与骨质疏松症相关的靶点 22 个, 主要影响转录因子活性、配受体活性、细胞因子活性、类固醇激素受体活性等生物过程, 涉及类风湿关节炎通路、破骨细胞分化通路、IL-17 因子通路、AGE-RAGE 信号通路、雌激素通路等。**结论** 研究结果证实黄芪具有多成分、多靶点、多过程的作用特征, 不仅直接参与骨代谢, 还间接通过消化系统、循环系统、内分泌系统等影响骨微环境, 调节骨代谢, 治疗骨质疏松症; Toll 样受体信号通路、炎症性肠病、PI3K-Akt 信号通路等与消化系统、脾脏相关通路的富集, 可能是黄芪从脾治疗骨质疏松症的重要证据。

**关键词:** 骨质疏松症; 黄芪; 网络药理学; 通路; 分子机制

## Exploring the molecular mechanism of Astragalus in the treatment of osteoporosis based on network pharmacology

HAN Linjing<sup>1</sup>, WU Keliang<sup>1</sup>, WANG Hongbo<sup>2</sup>, XIAO Qinghua<sup>2</sup>, ZHANG Zhen<sup>2</sup>, ZHU Jianzong<sup>2</sup>, LIN Xiaosheng<sup>2\*</sup>

1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405

2. Shenzhen Baoan Second People's Hospital (Group) General Hospital, Shenzhen 518104, China

\* Corresponding author: LIN Xiaosheng, Email: Lxshengtcn@126.com

**Abstract:** **Objective** To explore the potential mechanism of Astragalus treatment of osteoporosis based on network pharmacology. **Methods** The potential chemical components and target prediction of Astragalus were obtained in TCMSP database. GeneCards and OMIM database were used to predict and screen osteoporosis-related genes, and R software was used to match drug targets with disease targets. The drug-component-target-disease visualization network was established by Cytoscape. The Protein Interaction Network was constructed by using the String database online platform. The DAVID database was used for biological process and pathway analysis. **Results** A total of 20 major ingredients of Astragalus were obtained after screening, and 218 targets were predicted. 22 targets related to osteoporosis, mainly affecting transcription factor activity, ligand activity, cytokine activity, steroid hormone receptor activity, etc and involved in rheumatoid arthritis pathway, osteoclast differentiation pathway, IL-17 factor pathway, AGE-RAGE signaling pathway, estrogen pathway, etc. **Conclusion** The result of this study confirmed that Astragalus has multiple components, multiple targets, and multiple processes. It is preliminarily stated that it is not only directly involved in bone metabolism, but also indirectly through the digestive system, circulatory system, endocrine system and other systems regulates environmental of bone metabolism in the treatment of osteoporosis; The enrichment of the Toll-like receptor signaling pathway, inflammatory bowel disease, PI3K-Akt signaling pathway and other related pathways of the digestive system and spleen may be important evidence for the treatment of osteoporosis from the spleen.

**Key words:** osteoporosis; astragalus; network pharmacology; pathway; molecular mechanism

基金项目: 广东省中医药局面上科研项目(20191292); 深圳市科技创新委员会项目(JCYJ20180302144355408); 深圳市宝安区医疗卫生基础研究项目(2018JD023)

\* 通信作者: 林晓生, Email: Lxshengtcn@126.com

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是以骨量减少、骨密度降低,引起骨脆性增加、易发骨折为特征的全身性代谢性骨病<sup>[1]</sup>。其发病率与年龄呈正相关关

系<sup>[2]</sup>。随着人口老龄化程度的不断加剧,OP 在全世界范围内已经成为继心血管疾病、糖尿病之后发病率排第三的慢性疾病。据相关研究<sup>[3]</sup>报道,我国40岁以上人群OP发病率约为25%,预计到2050年,我国OP患者将达到2.12亿,严重影响我国人民的身体健康。

黄芪为常用补气药,性味甘微温,《神农本草经》将其列为“上品”,具有补正气、壮脾胃等功效。OP的病位在肾、脾及经络,肾虚是发生OP的根本原因,脾虚是其发展的诱导因素。脾虚不能运化水谷,水谷之精不能充养先天肾精,筋骨失养加速骨质疏松的发生。补脾益气是防治骨质疏松的基本法则之一,因此在OP的防治组方中,黄芪作为基础药物存在,据统计<sup>[4]</sup>,黄芪的组方使用频率位列第三位。大量研究表明<sup>[5-10]</sup>,黄芪内的活性成分能够多通路促进成骨细胞的增殖与分化,提高成骨细胞活性,并能通过雌激素通路抑制破骨细胞重吸收,改善骨质疏松,但对于黄芪抗OP的具体机制仍不十分明确。因此,对黄芪的有效成分、作用机制进行微观分析,将有利于黄芪的进一步开发利用,也为从补脾法入手治疗骨质疏松症提供可能的理论依据。

网络药理学(network pharmacology)是由英国的Hopkins在2007年提出的,其基本原理主要是通过高通量成分筛选、分子交换验证、结合网络分析等技术揭露并构建“药物-靶点-基因-疾病”之间复杂的网络关系,同时分析、预测药物的可能作用机制,最终结合相应的实验来检验模拟预测的机制。该理念打破了传统的“单个药物-单个靶点-单个疾病”的思想,是一种先进的、系统的研究思想。

## 1 材料与方法

### 1.1 黄芪成分及潜在靶点获取

通过中药药理学系统数据库(traditional Chinese medicine system pharmacology, TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)搜索黄芪的化学成分,按口服利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30$  及类药性(drug-likeness, DL)  $\geq 0.18$  进行筛选<sup>[11-13]</sup>,并将筛选结果在TCMSP数据库逐一进行作用蛋白靶点预测提取。

### 1.2 靶点名称标准化

将TCMSP数据库筛选所得所有蛋白靶点名导入UniProt数据库(<https://www.uniprot.org>),设置物种为人类(Human),筛选作用人类蛋白靶点名并转换成标椎的基因名。

### 1.3 疾病靶点获取

通过GeneCards(<https://www.genecards.org>)及OMIM在线数据库(<https://www.omim.org>),输入“Osteoporosis”,“Osteopenia”进行搜索与骨质疏松症相关的基因,设置关联分数(Relevance score)  $\geq 10$ ,结果导出为Excel文件。

### 1.4 抗OP活性成分筛选

将人类靶点的基因名与疾病相关基因名进行对比匹配处理,共同靶标结果就是黄芪治疗骨质疏松症的关键靶点基因,反向筛选出抗OP潜在活性成分,并使用R软件(Version R x64 3.5.1)绘制维恩图。

### 1.5 黄芪-活性成分-基因靶点-疾病网络构建

将活性成分、基因靶点导入Cytoscape 3.7.0,构建药物-活性成分-靶点基因-疾病可视化网络,网络中节点(node)代表疾病、药物、靶点基因、活性成分;边(edge)用来连接疾病与基因、基因与活性成分、活性成分与药物的关系,节点的大小与连接度值呈正相关关系。

### 1.6 蛋白靶点互作(PPI)网络建立

将黄芪抗OP关键靶点基因输入STRING数据库(<http://string-db.org/cgi/input.pl>, Version 11.0),设置物种为人类(Homo sapiens)进行构建,设置可信度为中等可信(medium confidence),隐藏未连接的节点,其他参数数据库保持系统推荐设置,进行蛋白互作分析,获取蛋白互作关系网络。

### 1.7 GO生物过程与KEGG富集分析及通路建立

将关键靶点基因输入到DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>, Version 6.8),选择物种为人类(Homo sapiens),进行GO生物过程(gene ontology-biological process, GO-BP)分析和KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)信号通路富集,以 $P < 0.05$ 进行靶基因筛选,分析黄芪发挥药理作用的生物过程及主要信号通路。

## 2 结果

### 2.1 黄芪的主要成分及潜在靶点获取

依据OB  $\geq 30\%$ 、DL  $\geq 0.18$ 的标椎,筛选出黄芪的主要化学成分有20种,其中M374未匹配到靶点,见表1。去除重复,共预测到潜在靶点218个,通过UniProt数据库标椎基因名转换后,共得到180个作用人类的基因靶点。通过GeneCards、OMIM数据库共检索到与OP相关基因199个,相匹配映射得到黄芪抗OP靶点共22个,见图1。

表 1 黄芪的主要成分及其 OB 和 DL 值

Table 1 The main components of Astragalus and its OB and DL values

| 编号   | 成分名称                                                                                                                                                       | OB/%   | DL   |
|------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|------|
| M211 | Mairin                                                                                                                                                     | 55.38  | 0.78 |
| M239 | Jaranol                                                                                                                                                    | 50.83  | 0.29 |
| M296 | hederagenin                                                                                                                                                | 36.91  | 0.75 |
| M033 | (3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol | 36.23  | 0.78 |
| M354 | isorhamnetin                                                                                                                                               | 49.6   | 0.31 |
| M371 | 3,9-di-O-methylnissolin                                                                                                                                    | 53.74  | 0.48 |
| M374 | 5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside                                                                                                             | 41.72  | 0.69 |
| M378 | 7-O-methylisomucronulatol                                                                                                                                  | 74.69  | 0.3  |
| M379 | 9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside                                                                                                                | 36.74  | 0.92 |
| M380 | (6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol                                                                                 | 64.26  | 0.42 |
| M387 | Bifendate                                                                                                                                                  | 31.1   | 0.67 |
| M392 | formononetin                                                                                                                                               | 69.67  | 0.21 |
| M398 | isoflavanone                                                                                                                                               | 109.99 | 0.3  |
| M417 | Calycosin                                                                                                                                                  | 47.75  | 0.24 |
| M422 | kaempferol                                                                                                                                                 | 41.88  | 0.24 |
| M433 | FA                                                                                                                                                         | 68.96  | 0.71 |
| M438 | (3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol                                                                                                         | 67.67  | 0.26 |
| M439 | isomucronulatol-7,2'-di-O-glucoside                                                                                                                        | 49.28  | 0.62 |
| M442 | 1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene                                                                                                                   | 39.05  | 0.48 |
| M098 | quercetin                                                                                                                                                  | 46.43  | 0.28 |

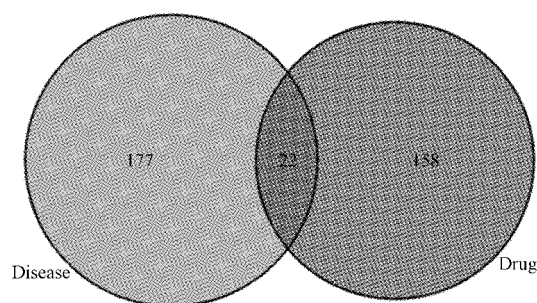


图 1 黄芪靶点与 OP 靶点匹配维恩图

注:左侧表示 OP 相关靶点,右侧表示黄芪作用靶点,重合部分表示黄芪潜在抗 OP 靶点。

Fig.1 Venn diagram of the targets of Astragalus and OP matching

## 2.2 “黄芪-活性成分-基因靶点-疾病”网络构建

将黄芪活性成分、靶点基因、疾病导入 Cytoscape 软件,构建黄芪-活性成分-靶点基因-疾病可视化网络,见图 2,节点图形大小与连接度值呈正相关,其中 M098 与 20 个靶点相连接,可能是黄芪治疗 OP 最重要成分, M354、M378、M392、M417、M422 均与 4 个及以上靶点连接,见表 2。

## 2.3 PPI 及 Hub 蛋白确定

将 OP 相关靶点基因导入 string 在线数据库,设置隐藏未连接的靶点,得到蛋白互作 PPI 网络,见图 3。节点表示蛋白靶点,边表示靶点间作用关系。包含节点 22 个,边 140 条,连接度值平均为 12.7。利用 Cytoscape 插件中 Degree 算法确定度值前 6 为 Hub 蛋白,其中 IL6、ESR1、MMP9 等 13 个蛋白度值均大于平均值,见表 3。

## 2.4 GO-BP 分析和 KEGG 通路建立及分析

GO-BP 结果分析(图 4)显示,22 个靶点基因主要参与了 transcription factor activity, RNA polymerase II proximal promoter sequence-specific DNA binding(转录因子活性, RNA 聚合酶 II 近端启动子序列特异性 DNA 结合, 7 个基因)、receptor ligand activity(受体配体活性, 6 个基因)、RNA polymerase II transcription factor binding(RNA 聚合酶 II 转录因子结合, 5 个基因)等多个过程;KEGG 通路富集(表 4)显示在 Rheumatoid arthritis(类风湿关节炎)、IL-17 signaling pathway(IL-17 信号通路)、AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications(糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路)、Osteoclast differentiation(破骨细胞分化)过程中,均有 7 个靶点基因参与。



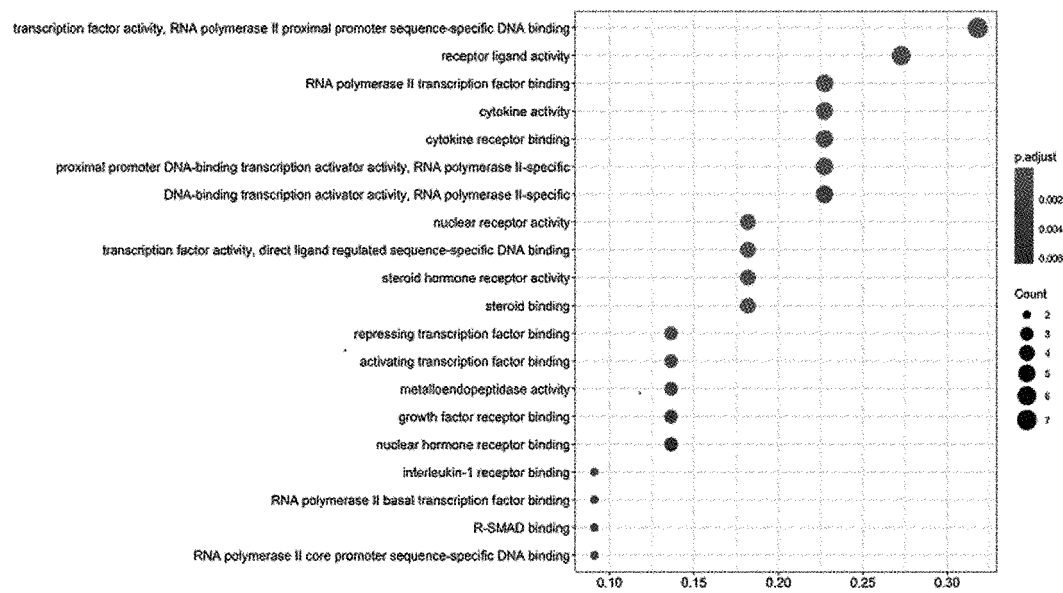


图 4 黄芪抗 OP 生物过程图

注:仅显示富集结果前 20 的过程。

Fig.4 Astragalus anti-OP biological process diagram

表 4 KEGG 通路富集结果

Table 4 KEGG pathway enrichment results

| 序号 | 英文名称                                                 | 中文名称          | 富集基因名称                              | 富集数量 |
|----|------------------------------------------------------|---------------|-------------------------------------|------|
| 1  | Rheumatoid arthritis                                 | 类风湿关节炎        | JUN/MMP3/FOS/IL6/IL1B/IFNG/IL1A     | 7    |
| 2  | IL-17 signaling pathway                              | IL-17 信号通路    | JUN/MMP3/FOS/MMP9/IL6/IL1B/IFNG     | 7    |
| 3  | AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications | AGE-RAGE 信号通路 | JUN/STAT1/MMP2/IL6/IL1B/COI1A1/IL1A | 7    |
| 4  | Osteoclast differentiation                           | 破骨细胞分化        | PPARG/JUN/STAT1/FOS/IL1B/IFNG/IL1A  | 7    |
| 5  | Fluid shear stress and atherosclerosis               | 流体剪切应力与动脉粥样硬化 | JUN/FOS/MMP2/MMP9/IL1B/IFNG/IL1A    | 7    |
| 6  | Inflammatory bowel disease (IBD)                     | 炎症性肠病 (IBD)   | JUN/STAT1/IL6/IL1B/IFNG/IL1A        | 6    |
| 7  | Leishmaniasis                                        | 利什曼病          | JUN/STAT1/FOS/IL1B/IFNG/IL1A        | 6    |
| 8  | Salmonella infection                                 | 沙门氏菌感染        | JUN/FOS/IL6/IL1B/IFNG/IL1A          | 6    |
| 9  | Endocrine resistance                                 | 内分泌抵抗         | ESR2/ESR1/JUN/FOS/MMP2/MMP9         | 6    |
| 10 | Toll-like receptor signaling pathway                 | Toll 样受体信号通路  | JUN/STAT1/FOS/IL6/IL1B/SPP1         | 6    |
| 11 | Th17 cell differentiation                            | Th17 细胞分化     | JUN/STAT1/FOS/IL6/IL1B/IFNG         | 6    |
| 12 | TNF signaling pathway                                | TNF 信号通路      | JUN/MMP3/FOS/MMP9/IL6/IL1B          | 6    |
| 13 | Estrogen signaling pathway                           | 雌激素信号通路       | ESR2/ESR1/JUN/FOS/MMP2/MMP9         | 6    |
| 14 | Measles                                              | 麻疹            | JUN/STAT1/FOS/IL6/IL1B/IL1A         | 6    |
| 15 | Transcriptional misregulation in cancer              | 癌症中的转录失调      | PPARG/MMP3/MMP9/IL6/RUNX2/IGFBP3    | 6    |
| 16 | Pertussis                                            | 百日咳           | JUN/FOS/IL6/IL1B/IL1A               | 5    |
| 17 | Chagas disease (American trypanosomiasis)            | 恰加斯病 (美国锥虫病)  | JUN/FOS/IL6/IL1B/IFNG               | 5    |
| 18 | Relaxin signaling pathway                            | 松弛素信号通路       | JUN/FOS/MMP2/MMP9/COI1A1            | 5    |
| 19 | Hepatitis B                                          | 乙肝            | JUN/STAT1/FOS/MMP9/IL6              | 5    |
| 20 | Influenza A                                          | 甲型流感          | STAT1/IL6/IL1B/IFNG/IL1A            | 5    |

注:仅显示富集结果前 20 的过程。

### 3 讨论

中医学认为骨质疏松症属于“骨痿”范畴,其发生主要与肾虚、脾虚、血瘀相关<sup>[14]</sup>。脾为后天之本,气血生化之源,主肌肉,运化水谷充养肾精,营养肌

肉骨骼。脾虚合并肾虚时,后天不足,运化无力,后天不能充养先天,加重骨骼失养,加速 OP 的发生。再有,脾虚则气血生化无源,气虚鼓动无力致血瘀。血瘀的病产物瘀血又会加重脾虚、肾虚,进一步加重骨质疏松症的发生。因此,补脾益气是治疗骨质

疏松症和预防骨质疏松骨折的基础。

本研究中筛选出 20 种黄芪化学成分,其中作用于骨质疏松症的活性成分有 9 种,分别是:quercetin(槲皮素)、kaempferol(山萘酚)、isorhamnetin(异鼠李素)、Jaranol、3,9-di-O-methylnissolin、formononetin、Calycosin、(6aR, 11aR)-9, 10-dimethoxy-6a, 11a-dihydro-6H-benzofurano[3, 2-c]chromen-3-ol、7-O-methylisomucronulato。槲皮素能够与 20 个骨质疏松靶点相结合,多通路发挥抗 OP 效用。顾艺婧等<sup>[15]</sup>研究表明,槲皮素能够抑制骨细胞衰老,提高骨小梁数量,从而达到治疗绝经后骨质疏松症的效果;另外槲皮素还能够激活 ERK 磷酸化,从而使骨髓间质干细胞增殖过程的到促进,发挥成骨作用<sup>[16]</sup>。山萘酚具有雌激素样活性,能够促进成骨细胞增殖活化过程。研究<sup>[17]</sup>也证实山萘酚能够体外提高成骨细胞内碱性磷酸酶的活性,促进大鼠成骨细胞的增殖与分化过程。在促进大鼠成骨分化,提高骨密度,改善骨微结构的治疗效果上要好于槲皮素<sup>[18]</sup>。异鼠李素也是黄芪抗 OP 重要成分之一,作用途径是增加骨矿密度及体积,提高骨小梁厚度及数量,降低骨小梁间距,具有防止去卵巢大鼠骨质疏松的作用<sup>[19]</sup>。

PPI 蛋白互作网络显示,靶蛋白之间是通过多途径、相互调节、共同作用的过程,而非单独发挥作用的机制。Hub 蛋白是指高连通蛋白,是药物发挥生物学效应的关键靶点。IL6 是一种多效应性细胞因子,能够起到抗炎和免疫调节等作用。通过对活动期类风湿关节炎患者的研究<sup>[20]</sup>显示,RA 造成的骨质流失,与循环中细胞因子水平升高有关,内源性细胞因子(RANKL 和 IL6)可直接抑制成骨细胞增殖和分化,另外还能够刺激破骨细胞形成。ESR1 为雌激素受体  $\alpha$  的编码基因,是骨质疏松雌激素通路上的重要靶点基因。ESR1 可调节骨代谢和峰值的获取,抑制骨丢失,在骨生长和骨量维持中发挥重要作用。雌激素受体与雌激素结合后,能够激活破骨细胞下游信号通路 Fas/ FasL,从而诱导破骨细胞发生凋亡<sup>[21]</sup>。另外 ESR1 基因多态性与骨质疏松症也有关<sup>[22]</sup>,原因是染色体 6P25.1 区上的某些基因型突变可能直接与骨形成有关;MMP9 基质金属蛋白酶家族的一员,动物实验<sup>[23]</sup>显示 MMP9 与骨量相关。MMP9 基因缺失,可提高骨小梁连接密度,而 MMP9 高表达则呈现破骨细胞吸收能力增强,骨质疏松的表现。

GO-BP 结果显示黄芪抗骨质疏松成分作用的靶点蛋白功能主要集中在 RNA 转录、配受体活性方

面。异常的转录翻译将导致下游编码蛋白的变异及功能异常,使细胞内外配受体结合障碍,不能发挥正常的生物功能。KEGG 富集分析结果显示,破骨细胞分化、类风湿关节炎、IL-17 信号通路、AGE-RAGE 信号通路和雌激素信号通路可能是主要作用通路。基于此,笔者认为黄芪抗骨质疏松的主要作用机制就是以上过程。在类风湿关节炎通路中,AP1 可以通过 RANKL/RANK 通路影响破骨细胞分化过程,该通路是骨质疏松的经典过程,成骨细胞来源的 RANKL 可以与破骨细胞 RANK 结合,从而诱导破骨细胞的分化与成熟<sup>[24]</sup>。在破骨细胞分化通路中,黄芪可能是通过直接和间接两个路径。直接路径中活性成分直接作用于特异性破骨细胞因子 c-FOS,抑制破骨细胞分化<sup>[25]</sup>;间接路径中作用于核内的转录子 PPAR $\gamma$ , PPAR $\gamma$ <sup>[26]</sup>可促进骨髓间充质细胞向脂肪细胞转换,从而导致骨髓脂质代谢紊乱,使间充质细胞向成骨细胞转化减少,破骨细胞分化成熟增多,两者平衡被打破,发生骨质疏松。因此笔者认为,黄芪在破骨细胞通路上可能是通过抑制 PPAR $\gamma$  表达和增强 c-FOS 表达实现的。IL-17 信号通路中主要作用于 AP-1、IL6、IL1 $\beta$ 、MMP3、MMP9 等因子,有雌激素参与诱导 IL-17 分化可能是骨质疏松的新机制,雌激素能够逆转 IL-17 直接刺激成、破骨细胞的作用<sup>[27]</sup>,表现出破骨细胞成熟分化被抑制,受抑制的成骨细胞矿化被解除。Dixit 等<sup>[28]</sup>的研究也证实,抗 IL17 抗体能够增强骨骼再生,提高损伤部位成骨标志物表达水平,降低氧化应激反应,在骨质疏松性骨折中能促进骨愈合及再生的潜力。AGE-RAGE 信号通路中黄芪作用于 IL1、IL6、MMP2、STAT1、3、AP1 等因子,该过程可能是通过 AP1 参与的 MAPK 信号通路间接调节骨细胞发挥抗骨质疏松作用,晚期糖基化终末产物(AGEs)在一定的环境下可促进骨髓来源的内皮祖细胞(EPCs)的磷酸化,提高 MAPK 的蛋白表达,加速 EPCs 向成骨细胞分化,该成骨细胞的分化过程主要与 MAPK 通路中的 p38 和 JNK 相关<sup>[29]</sup>。MAPK 通路还可参与消化系统的生物过程,具有保护胃粘膜上皮细胞的作用。另外,通路富集结果中 Toll 样受体信号通路、炎症性肠病通路,PI3K-Akt 信号通路等与消化系统、脾脏相关通路的出现,可能是黄芪从脾治疗骨质疏松症的重要证据。

综上所述,通过网络药理学分析,黄芪抗骨质疏松的分子机制是多成分、多分子、多路径的共同作用、相互作用的复杂过程;不仅直接参与骨代谢,还

间接通过消化系统、循环系统、内分泌系统等影响骨微环境,调节骨代谢,这也体现了中医学整体观念的理念。另外,大量文献报道结果与本研究方法中的成分、靶点、通路相一致,也证实了本研究方法的可靠性。但是,本次研究结果中也显示出很多未知的分子通路及作用机制,需要深入研究,这也为进一步从补脾方向研究骨质疏松症提供了一定的参考。

### 【参 考 文 献】

- [1] Bijlsma AY, Meskers CG, Westendorp RG, et al. Chronology of age-related disease definitions: osteoporosis and sarcopenia[J]. *Ageing Res Rev*, 2012,11(2):320-324.
- [2] Serio B, Paolino S, Casabella A, et al. Osteoporosis in the elderly[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2013,25 Suppl 1:S27-29.
- [3] 张智海,张智若,刘忠厚,等. 中国大陆地区以-2.0SD为诊断标准的骨质疏松症发病率回顾性研究[J]. *中国骨质疏松杂志*,2016,22(01):1-8.
- [4] 金华,章薇,袁静. 单味中药防治骨质疏松症的研究进展[J]. *中国中医骨伤科杂志*,2006,4:75-77.
- [5] 孔祥鹤,牛银波,王婷梅,等. 黄芪多糖对大鼠原代成骨细胞的影响及其机制研究[J]. *中草药*,2011,42(10):2065-2069.
- [6] Ormsby RT, Findlay DM, Kogawa M, et al. Analysis of vitamin D metabolism gene expression in human bone: evidence for autocrine control of bone remodelling[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2014,144 (Pt A):110-113.
- [7] 柴艺汇,高洁,陈云志,等. 黄芪多糖对小鼠 MC-3T3-E1 成骨细胞维生素 D 受体 mRNA 及蛋白表达的影响[J]. *时珍国医国药*,2018,29(6):1281-1283.
- [8] 柴艺汇,高洁,山兴中,等. 黄芪多糖对 MC-3T3-E1 成骨细胞 CYP27B,CYP24A mRNA 及蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*,2018,24(13):147-151.
- [9] Movérare S, Venken K, Eriksson AL, et al. Differential effects on bone of estrogen receptor alpha and androgen receptor activation in orchidectomized adult male mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100(23):13573-13578.
- [10] Bertonazzi A, Nelson B, Salvador J, et al. The smallest available estradiol transdermal patch: a new treatment option for the prevention of postmenopausal osteoporosis[J]. *Womens Health (Lond)*, 2015,11(6):815-824.
- [11] Xu X, Zhang W, Huang C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Mol Sci*, 2012,13(6):6964-6982.
- [12] Walters WP, Murcko MA. Prediction of 'drug-likeness'[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002,54(3):255-271.
- [13] Liu J, Pei T, Mu J, et al. Systems pharmacology uncovers the multiple mechanisms of Xijiao Dihuang Decoction for the treatment of viral hemorrhagic fever[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2016,2016:9025036.
- [14] 黄宏兴,吴青,李跃华,等. 肌肉、骨骼与骨质疏松专家共识[J]. *中国骨质疏松杂志*,2016,22(10):1221-1229,1236.
- [15] 顾艺婧,傅稼耀,武文婧,等. 槲皮素通过抗骨相关细胞衰老作用治疗雌激素缺乏骨质疏松症的初步研究[J]. *同济大学学报(医学版)*,2019,3:274-280.
- [16] 陈林攀,邓鸣涛,杜川,等. 杜仲叶提取物槲皮素通过激活 ERK 磷酸化促进 BMSCs 增殖的研究[J]. *时珍国医国药*, 2014,12:2845-2847.
- [17] 王建华,郑丽,冀国荣,等. 山萘酚对大鼠成骨细胞增殖与分化的影响[J]. *天然产物研究与开发*,2008,6:997-999.
- [18] 袁真,闵珺,王恺,等. 杜仲黄酮类 3 种药物成分治疗大鼠骨质疏松的比较研究[J]. *中国骨质疏松杂志*,2018,24(2):244-248.
- [19] 晁杲,廖圣宝,周静,等. 异鼠李素抗骨质疏松作用及机制探讨[J]. *中国医院药学杂志*,2016,17:1456-1460.
- [20] Pathak JL, Bravenboer N, Verschueren P, et al. Inflammatory factors in the circulation of patients with active rheumatoid arthritis stimulate osteoclastogenesis via endogenous cytokine production by osteoblasts[J]. *Osteoporos Int*, 2014,25(10):2453-2463.
- [21] 沈国蔚,成心锐,颜世昌,等. CFTR 在雌激素诱导破骨细胞凋亡中的作用机制研究[J]. *中国骨与关节损伤杂志*,2018,11:1150-1152.
- [22] Luo L, Xia W, Nie M, et al. Association of ESR1 and C6orf97 gene polymorphism with osteoporosis in postmenopausal women[J]. *Mol Biol Rep*, 2014,41(5):3235-3243.
- [23] Nyman JS, Lynch CC, Perrien DS, et al. Differential effects between the loss of MMP-2 and MMP-9 on structural and tissue-level properties of bone[J]. *J Bone Miner Res*, 2011,26(6):1252-1260.
- [24] Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, et al. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease[J]. *Trends Mol Med*, 2006,12(1):17-25.
- [25] 王想福,孙凤歧,叶丙霖,等. 类黄酮对人体外周血破骨细胞分化 p38MAPK/c-Fos 信号通路调控的研究[J]. *中国骨质疏松杂志*,2017,23(11):1488-1491,1529.
- [26] Wassef M, Tork OM, Rashed LA, et al. Mitochondrial dysfunction in diabetic cardiomyopathy: effect of mesenchymal stem cell with PPAR- $\gamma$  agonist or exendin-4[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2018,126(1):27-38.
- [27] Tyagi AM, Srivastava K, Mansoori MN, et al. Estrogen deficiency induces the differentiation of IL-17 secreting Th17 cells; a new candidate in the pathogenesis of osteoporosis[J]. *PLoS One*, 2012,7(9):e44552.
- [28] Dixit M, Singh KB, Prakash R, et al. Functional block of IL-17 cytokine promotes bone healing by augmenting FOXO1 and ATF4 activity in cortical bone defect model[J]. *Osteoporos Int*, 2017,28(7):2207-2220.
- [29] 王寓平. AGEs/RAGE 通过 MAPK 信号通路促进大鼠内皮祖细胞向成骨细胞分化[D]. 西南医科大学,2017.

(收稿日期:2019-10-31;修回日期:2019-11-26)