

基于“成分-靶点-通路”网络模式探讨淫羊藿治疗骨性关节炎的分子机制^Δ

骆 帝^{1*}, 许 波¹, 李 刚^{1#}, 梁学振¹, 盖帅帅¹, 李嘉程¹, 阎博昭¹, 夏聪敏²(1.山东中医药大学第一临床医学院, 济南 250011; 2.山东中医药大学中医学院, 济南 250355)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)15-2073-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.15.13

摘要 目的:基于“成分-靶点-通路”网络模式探讨淫羊藿治疗骨性关节炎可能的分子机制。方法:通过中药系统药理学数据库和分析平台,筛选和预测淫羊藿可能的入血活性成分[以药物动力学参数中的口服药物生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18进行筛选]和靶点,挖掘疾病相关数据库中骨性关节炎的作用靶点,采用拓扑分析工具筛选淫羊藿治疗骨性关节炎的关键靶点,采用ClueGo插件分析其可能的分子机制。结果:检索出淫羊藿相关成分130个,根据OB和DL值筛选出23个活性成分,同时预测出102个可能的作用靶点,构建了“入血活性成分-疾病靶点”相互关系网络图;通过疾病相关数据库检索出168个骨性关节炎相关靶点,拓扑分析筛选出185个关键节点;ClueGo分析结果显示,淫羊藿作用于骨性关节炎的关键节点涉及的信号通路主要被富集在细胞周期、炎症及癌症相关等68条信号通路中;其可能的控制疾病进展的作用机制不仅包括直接参与软骨细胞的增殖、凋亡及分化,调节骨代谢平衡,还可以通过调节炎症、免疫等干预和影响骨与软骨微环境。结论:淫羊藿治疗骨性关节炎具有多系统、多成分、多靶点的特点;预测、筛选出的机制与目前治疗骨性关节炎的作用机制相符合。

关键词 淫羊藿;骨性关节炎;网络药理学;靶点;分子机制;信号通路

Molecular Mechanism of *Epimedium brevicornu* in the Treatment of Osteoarthritis Based on “Ingredient-Target-Pathway” Network Mode

LUO Di¹, XU Bo¹, LI Gang¹, LIANG Xuezhen¹, GAI Shuashuai¹, LI Jiacheng¹, YAN Bozhao¹, XIA Congmin²
(1.The First Clinical Medical College of Shandong University of TCM, Jinan 250011, China; 2.College of TCM, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the potential molecular mechanism of *Epimedium brevicornu* in the treatment of osteoarthritis based on “ingredient-target-pathway” network mode. METHODS: The potential active components in blood [pharmacokinetic parameters as oral drug bioavailability (OB) ≥30% and drug-likeness (DL) ≥0.18] and target spots of *E. brevicornu* were screened and predicted by TCM system pharmacology database and analysis platform. The target spots of osteoarthritis were excavated from disease-related database, and key target spots of *E. brevicornu* in the treatment of osteoarthritis were screened by Topology analysis. The potential molecular mechanism of it was analyzed by using ClueGo analysis. RESULTS: A total of 130 corresponding compounds of *E. brevicornu* were retrieved in the study; 23 active compounds were screened according to OB and DL value, which predicted 102 potential target spots, the relationship networks of “the active components in blood-disease target” was structured. A total of 168 targets spots related to osteoarthritis were retrieved from disease-related database, and 185 key nodes were screened out by topological analysis. ClueGo analysis showed that signaling pathways involved in the action of *E. brevicornu* on osteoarthritis were mainly enriched in 68 signaling pathways such as cell cycle, inflammation and cancer related signaling pathways. The potential mechanism is that control the progress of disease to participate in the proliferation, apoptosis and differentiation of cartilage cells directly, regulate bone metabolism balance, and regulate the inflammation system, immune system and etc. to interfere with and influence bone and cartilage microenvironment. CONCLUSIONS: For osteoarthritis, *E. brevicornu* has the characteristics of multiple systems, multiple targets and multiple components. It is consistent with the current mechanism of osteoarthritis treatment.

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81774333、81373660);山东省重点研发计划项目(No.2016GSF202022)

* 博士研究生。研究方向:骨与关节疾病。E-mail:topld22@163.com

通信作者:教授,博士生导师,博士。研究方向:骨与关节疾病。E-mail:doctorlee808@163.com

KEYWORDS *Epimedium brevicornu*; Osteoarthritis; Network pharmacology; Target spot; Molecular mechanisms; Signaling pathway

骨性关节炎(Osteoarthritis)是一种由机械性和生物性等因素引起的,以关节软骨变性、骨质丢失、关节边缘

骨赘形成及软骨下骨质增生为特征的慢性、渐进性、进行性关节疾病^[1]。流行病学研究表明,全世界 50 岁以上人群约有 50% 患有骨性关节炎,而我国 75 岁以上人群的骨性关节炎患病率高达 80%,其致残率可达 53%^[2]。目前,骨性关节炎的非手术治疗手段有很多^[3],包括药物干预、饮食调控和运动疗法等。采用化学药治疗时药物通常分为非特异性药物和特异性药物两类,可显著缓解患者的临床症状,但这些药物的不良反应和耐受性限制了其应用,而且上述药物靶向性过于单一,因此,亟需探寻新的思路解决上述问题。传统中医凭借其“简、便、廉、效”的优势在防治骨性关节炎方面可能具有其独有的优势和广阔的发展前景。

淫羊藿始载于《神农本草经》,归肝、肾经,可补肾阳、强筋骨、祛风湿,用于阳痿遗精、筋骨痿软、风湿痹痛及麻木拘挛等^[4]。文献研究表明^[5],淫羊藿对关节软骨细胞有增殖促进作用,在治疗骨性关节炎方面可发挥重要作用,但其药效物质基础和分子机制至今尚不明确。因此,分析淫羊藿的有效活性成分,探讨其可能的作用机制,对淫羊藿治疗作用科学内涵的阐述和临床应用的推广具有重要意义。但考虑到中药的多成分、多靶点、多通路特点,单纯依靠现有的技术手段往往难以科学、有效、全面地阐释中药的作用机制。

网络药理学是基于药物系统和生物系统的作用模式而提出的一种药物设计新方法^[6],其为中药潜在活性成分和作用靶点的进一步研究提供了有效的策略。本研究基于“成分-靶点-通路”网络模型,科学筛选和系统预测淫羊藿入血活性成分干预骨性关节炎的潜在作用靶点和信号通路,为深入探讨淫羊藿治疗骨性关节炎的作用机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 数据库与软件

网络图像化软件 Cytoscape (3.2.1 版)(<http://www.cytoscape.org>); 中药系统药理学数据库和分析平台 (Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP) (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>); 治疗靶点数据库 (Therapeutic Target Database, TTD) (<http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>); 药物银行 (DrugBank) (<https://www.drugbank.ca/>); 在线人类孟德尔遗传数据库 (Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM) (<http://www.omim.org/>); 遗传关联数据库 (The Genetic Association Database, GAD) (<https://geneticassociationdb.nih.gov/>); 药物遗传学和药物基因组学知识库 (Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Knowledge Base, PharmGKB) (<https://www.pharmgkb.org/>); 蛋白质数据库 (UniProt) (<http://www.uniprot.org/>); 京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) (<http://www.genome.jp/kegg/>)。

1.2 研究流程

本研究首先通过药物动力学 (Absorption and distribution and metabolism and excretion, ADME) 参数筛选出淫羊藿入血活性成分,随后利用 TCMSP 数据库的靶点预测模型预测出其可能作用的靶点;再由疾病靶点数据库筛选出骨性关节炎相应靶点;然后,使用相关软件绘制出蛋白质间相互作用关系,抽取交集并利用相关网络参数进行拓扑分析,并对最终得到的关键靶点进行通路富集分析,以尝试分析淫羊藿治疗骨性关节炎的分子机制,分析流程图见图 1。

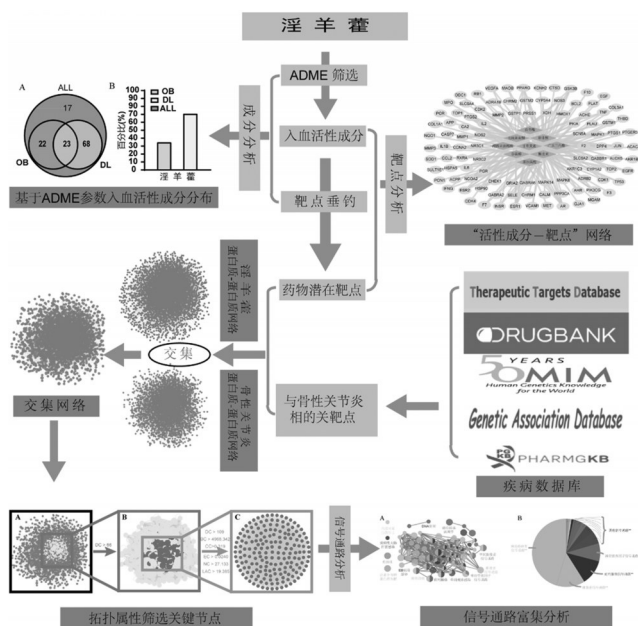


图 1 淫羊藿治疗骨性关节炎的分子机制分析流程图
Fig 1 Flow chart of molecular mechanism analysis of *E. brevicornu* in the treatment of osteoarthritis

1.3 淫羊藿入血活性成分筛选与 ADME 参数分析

检索 TCMSP 数据库中淫羊藿所有成分数据,根据成分的 ADME 参数进行入血活性成分的筛选^[7-9],其中筛选条件^[10]为药物口服生物利用度 (Oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,类药性 (Drug-likeness, DL) ≥ 0.18 。

1.4 淫羊藿作用靶点预测及“入血活性成分-疾病靶点”网络构建分析

利用 TCMSP 数据库靶点预测模型对上述入血活性成分的作用靶点进行预测,通过 Cytoscape 软件构建“入血活性成分-疾病靶点”网络图,其中分子、靶蛋白用“节点” (Node) 表示,成分与靶点之间的关系用“边” (Edge) 表示;采用 Network analyzer 软件分析网络特征,明确淫羊藿中起重要作用的入血活性成分和作用靶点,并查阅文献分析其相互作用关系。

1.5 骨性关节炎相关疾病靶点检索分析

以“Osteoarthritis”作为关键词检索 TTD、DrugBank、OMIM、GAD、PharmGKB 等与疾病靶点相关的数据库中与骨性关节炎疾病已知的相关靶点。

1.6 淫羊藿治疗骨性关节炎的蛋白质-蛋白质相互作用关系的网络构建与关键靶点筛选分析

机体的内在调控往往不是仅仅由单一信号通路支配的,而是由极其复杂的网络调控的;不同的靶点和信号通路之间会存在不同程度的信号转导,故药物作用机制除考虑与成分靶点的直接结合外,还应考虑直接调控靶点与间接调控其他靶点相结合的调控方式。构建与挖掘蛋白质-蛋白质相互作用关系(Protein-Protein Interaction, PPI)数据为寻找靶点的直接、间接调控作用关系提供了可能。

本研究采用的 Cytoscape 软件中 BisoGenet 插件是由 Biological General Repository for Interaction Datasets (BioGRID)、Biomolecular Interaction Network Database (BIND)、Molecular Interaction Database (MINT)、Human Protein Reference Database (HPRD)、Database of Interacting Proteins (DIP) 和 Biological General Repository for Interaction Datasets (GRID) 等 6 种蛋白质相互作用关系数据库构成的,用以绘制和分析上述获得的入血活性成分及疾病靶点的 PPI 网络。

利用 Cytoscape 软件抽取上述绘制的 2 个网络图的交集网络,通过网络拓扑分析插件 CytoNCA^[11],借助度中心性(Degree centrality, DC)、介度中心性(Betweenness centrality, BC)、接近中心性(Closeness centrality, CC)、特征向量中心性(Eigenvector centrality, EC)、网络中心性(Network centrality, NC)和局部边连通性(Local average connectivity, LAC)等指标筛选网络中关键基因,以尽可能在网络中获得更多节点的传递信息和更高的节点信息传递效率,充分发挥其在网络中重要的作用。其中,筛选标准为 DC 值大于所有节点 DC 值中位数 2 倍的节点和其他几个指标大于所有节点中位数的节点。

1.7 Pathway 富集分析

采用通路富集分析插件 ClueGO^[12]富集分析上述获得的关键靶点,以节点和饼状图的形式展现信号通路富集结果,进一步分析淫羊藿治疗骨性关节炎可能的作用机制。其中,同一类型的信号通路用同种图形的节点代表,信号通路的显著程度用节点的大小代表,信号通路显著程度越高节点越大,说明该通路的重要性越高。

2 结果

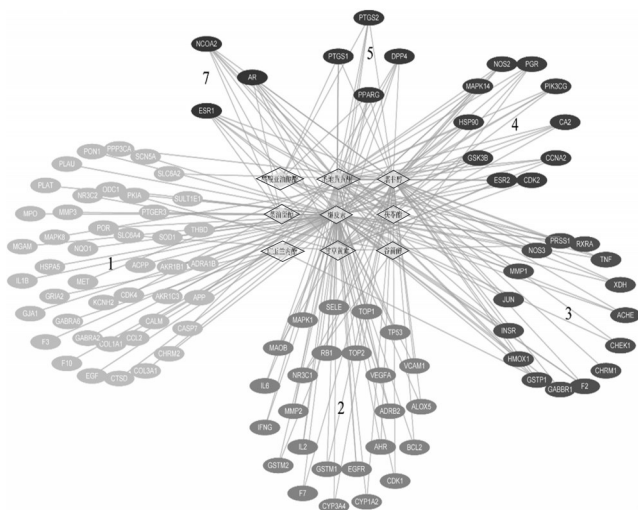
2.1 淫羊藿入血活性成分筛选与 ADME 参数分析

通过 TCMSP 数据库检索出淫羊藿的相关成分 130 个,其中满足 $OB \geq 30\%$ 的成分共有 45 个,满足 $DL \geq 0.18$ 的成分共有 91 个。根据 ADME 参数筛选标准,即同时满足 $OB \geq 30\%$ 与 $DL \geq 0.18$ 的成分共有 23 个,即筛选出淫羊藿中 23 个入血活性成分。

2.2 淫羊藿作用靶点预测及“入血活性成分-疾病靶点”网络构建分析

通过 TCMSP 数据库靶点预测模型,预测获得 23 个上述入血活性成分的作用靶点 102 个;利用 Cytoscape 软

件绘制入血活性成分与作用靶点关系的网络图,结果发现,淫羊藿的入血活性成分与作用靶点存在 217 个不同程度的相互关系;在上述 23 个成分中,最终得到与靶点存在相互作用关系的入血活性成分包括茯苓酯、槲皮素等 9 个化学成分,根据不同靶点与成分对应关系数目分别进行分类展示。靶点对应的成分越多,提示该靶点相对重要性越高。淫羊藿“入血活性成分-疾病靶点”相互关系网络图见图 2。



注:图中菱形图标中的内容代表淫羊藿活最终入血活性成分;椭圆形图标中的内容代表靶点基因名(如:ODC1 代表 Ornithine decarboxylase,鸟氨酸脱羧酶;EGFR 代表 Epidermal growth factor receptor,表皮生长因子受体);数字代表不同靶点与入血活性成分的关系数

Note: the content of diamond icon in the diagram represent active components of *E. brevicornu* in blood; the content in the oval icon represent the target gene name (i.g. ODC1 means ornithine decarboxylase; EGFR means epidermal growth factor receptor); the figure represent the number of relationship between different targets and active components in blood

图 2 淫羊藿“入血活性成分-疾病靶点”相互关系网络图

Fig 2 “Active components in blood-disease target” interrelationship network diagram of *E. brevicornu*

2.3 与骨性关节炎相关疾病靶点的检索分析

通过检索 TTD、DrugBank、OMIM、GAD、PharmGKB 等数据库分别获得 35、1、61、97、2 个靶点,删除重复靶点以纳入 168 个与骨性关节炎发生、发展密切相关的靶点。

2.4 淫羊藿治疗骨性关节炎的 PPI 网络构建与关键靶点筛选分析

2.4.1 淫羊藿治疗骨性关节炎的 PPI 网络构建分析 通过 BisoGenet 工具构建淫羊藿入血活性成分的作用靶点 PPI 网络图,发现有 6 134 个与其产生直接或间接作用的靶点和 138 994 条靶点与靶点之间的相互关系;与此同时,绘制与骨性关节炎相关的靶点 PPI 网络图,发现有 4 101 个与其直接或者间接相关的靶点和 97 706 条个靶点与靶点之间的相互关系。

2.4.2 淫羊藿治疗骨性关节炎的关键靶点筛选分析 通过 Cytoscape 软件抽取上述绘制的 2 个 PPI 网络图中的交集网络,采用 CytoNCA 拓扑属性筛选获得 185 个关键节点。筛选策略示意图见图 3。

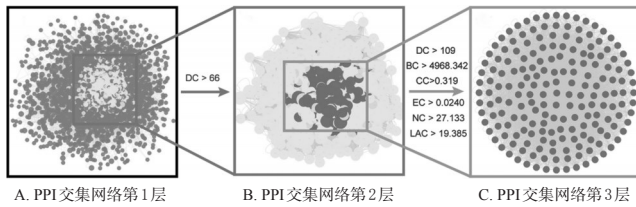


图 3 拓扑分析淫羊藿治疗骨性关节炎关键节点的目标筛选策略图

Fig 3 Target topological analysis screening strategy diagram of key spot of *E. brevicornu* in the treatment of osteoarthritis

2.5 Pathway 富集分析

通过 ClueGO 插件对上述 185 个关键节点进行 Pathway 富集分析发现,淫羊藿作用于骨性关节炎的关键节点涉及的信号通路主要与细胞周期、炎症及癌症等的 68 条信号通路相关,主要包括以下几部分:(1)细胞周期相关通路 23 条:Wnt、转化生长因子(TGF)- β 、FoxO、低氧诱导因子(HIF)-1 α 、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、Notch、DNA 复制、泛素介导的蛋白质水解、卵母细胞减数分裂、粘合连接及凋亡等;(2)炎症相关通路 18 条:核转录因子(NF)- κ B 信号通路、白细胞介素(IL)-17 信号通路、B 细胞抗原受体信号通路及 T 细胞抗原受体等;(3)癌症相关信号通路 14 条:癌症中转录失调、甲状腺癌、前列腺癌、结肠直肠癌、非小细胞肺癌、肾细胞癌、胰腺癌及膀胱癌等;(4)其他相关信号通路 13 条:甲状腺激素、神经营养因子、乙型肝炎、丙型肝炎及甲型流感等。淫羊藿治疗骨性关节炎信号通路富集分析情况见图 4。

3 讨论

中医学中没有骨性关节炎病名,依据其临床表现,属于“骨痹”范畴,其基本病机为经脉瘀阻、肾精亏虚。肾虚是发病之根本,加之气滞、血瘀、痰凝等因素贯穿始终,肾虚为本,血瘀为标,病程较长,迁延不愈^[13]。《素问·五脏生成篇》曰:“骨痹不已,复感于邪,内舍于肾”。中医学认为“痹者,闭也”,闭阻不通,则发疼痛,即“不通则痛”。《辨证录》云:“内治之法,必须活血祛瘀为先,血不活则瘀不能去”。《医学衷中参西录》言:“补肾之药,实兼开瘀血之药”。故治疗本病应以补肾为本,配合活血化瘀药物,从而达到标本兼治的目的^[14]。

淫羊藿又称“三枝九叶草”,属《神农本草经》中品行列,具有补精壮体的作用,在治疗骨性关节炎方面具有较好的疗效^[15]。本研究通过筛选获得淫羊藿中入血的活性成分 23 个,并在此基础上挖掘出 102 个可能的靶点和 217 个相互关系。“入血活性成分-疾病靶点”相互关系网络图分析显示,木犀草素、槲皮素、谷甾醇、山奈酚等

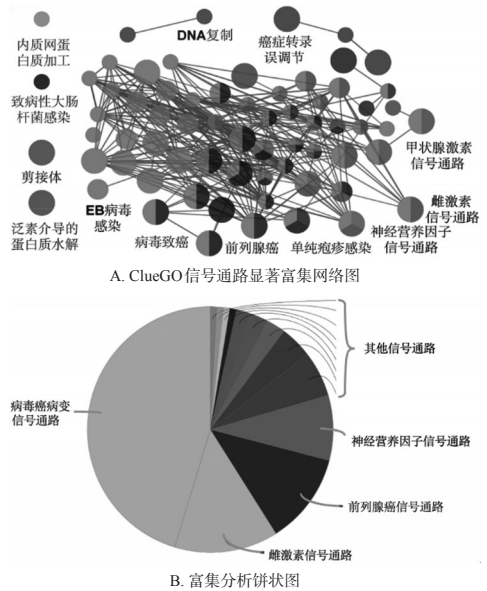


图 4 淫羊藿治疗骨性关节炎信号通路富集分析情况
Fig 4 Analysis of signal pathway enrichment of *E. brevicornu* in the treatment of osteoarthritis

有效成分能同时作用于多个靶点,而过氧化物酶体增生因子激活受体(PPARG)、雌激素受体(ESR1)、细胞分裂蛋白激酶(CDK1)等靶点也能与多个成分形成对应关系。基于上述结果可知,淫羊藿的有效成分之间存在协同关系,其调控的靶点也在疾病发生发展中发挥着关键作用。

从通路富集结果分析可知,淫羊藿主要通过影响细胞周期、炎症及癌症相关等通路而发挥治疗骨性关节炎作用。(1)细胞周期相关通路 23 条。如 Wnt、TGF- β 、FoxO、HIF-1 α 、MAPK 等,其中 Wnt 信号通路和 TGF- β 信号通路均能促进间充质干细胞的更新,在软骨细胞的增殖、分化中发挥着重要的调节作用^[16-17];而 MAPK 信号通路可受到生长因子、细胞因子、神经递质、激素等多种信号分子刺激后发生磷酸化而影响细胞增殖、分化、迁移、凋亡及应激反应等生理过程^[18-19]。(2)炎症相关通路 18 条。骨性关节炎是在多种因素共同作用下的具有炎症特性的临床疾病,关节软骨的退变既是其启动因素,又是其主要病理特征,可激活多种炎症反应的信号转导过程,故调控其病变周围的炎症环境对于疾病的转归有着重要意义。其中,NF- κ B 信号通路及 IL-17 信号通路与炎症因子的产生密切相关,参与多种因子的调控作用,进而影响骨性关节炎的重要进程^[20-21],B 细胞抗原受体信号通路的激活往往通过复杂的信号传递级联反应影响细胞代谢、基因表达和细胞骨架组织等过程^[22]。T 细胞抗原受体信号通路直接调节机体免疫而发挥直接杀伤靶细胞、参加免疫应答及产生细胞因子等多种生物学功能^[23]。(3)癌症相关信号通路 14 条。癌症中转录失调、甲状腺癌、前列腺癌、结肠直肠癌等癌症相关信号通路也被显著富集,说明疾病之间的调控机制存在相互联

系、相互影响和相互交叉的关系^[24]。(4)其他相关信号通路13条。体内代谢之间是相互作用、相互联系的,通过全身其他系统,如内分泌系统、神经系统等多种代谢可以间接影响或干预骨微环境。所以,在淫羊藿作用靶点网络集群中还覆盖了甲状腺激素、神经营养因子、乙型肝炎、丙型肝炎及甲型流感等信号通路。

综上所述,淫羊藿作用于骨性关节炎的各作用通路之间相互联系,既存在相互协同的关系又存在相互拮抗的关系,故针对骨性关节炎的治疗不仅要局部关键通路入手,还应考虑疾病病因、所处机体环境的差异进行多靶点、多系统干预,与传统中医“治病求本、标本兼治”的治疗特点相一致,也进一步说明了中药多靶点、多方面及多系统干预的可行性和优势。基于“成分-靶点-通路”的网络药理学分析结果能有效地揭示淫羊藿治疗骨性关节炎可能的活性成分及作用机制,为后续实验设计的优化和机制的进一步探讨等提供了强有力的理论依据;同时,也为中药及其复方针对某种特定疾病的机制研究提供了思路和方法。

参考文献

[1] 梁桂洪,梁祖建,林勇凯,等.补肾活血中药对比塞来昔布治疗膝骨性关节炎疗效与安全性的Meta分析[J].中国药房,2016,27(27):3810-3814.

[2] BERTRAND J, CROMME C, UMLAUF D, et al. Molecular mechanisms of cartilage remodelling in osteoarthritis[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(10):1594-1601.

[3] 郑晓芬.骨关节炎发病机制和治疗的最新进展[J].中国组织工程研究,2017,21(20):3255-3262.

[4] 李东晓,吴瑕,张磊,等.淫羊藿对骨骼系统的药理作用研究进展[J].中药药理与临床,2009,25(1):74-79.

[5] 张蕾,程瑜,金王东,等.药用植物淫羊藿与富血小板血浆协同对软骨细胞的增殖作用[J].浙江农业学报,2014,26(3):680-684.

[6] HOPKINS AL. Network pharmacology[J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(10):1110-1111.

[7] MA C, WANG L, XIE XQ. GPU accelerated chemical similarity calculation for compound library comparison[J]. *J Chem Inf Model*, 2011, 51(7):1521-1527.

[8] LIU H, WANG J, ZHOU W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: an example using licorice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 146(3):773-793.

[9] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Molecular Sci*, 2012, 13(6):6964-6982.

[10] LI J, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufei Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Sci Rep*, 2015. DOI: 10.1038/srep15290.

[11] TANG Y, LI M, WANG J, et al. CytoNCA: a cytoscape

plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks[J]. *Biosystems*, 2015. DOI: 10.1016/j.biosystems.2014.11.005.

[12] BINDEA G, MLECNIK B, HACKL H, et al. ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks[J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(8):1091-1093.

[13] 艾金伟,李德胜,刘羽,等.中医辨证治疗膝骨性关节炎的网状Meta分析[J].中国循证医学杂志,2016,16(5):532-542.

[14] 周达岸.骨性关节炎的中医发病机制与治疗研究进展[J].中华中医药学刊,2007,25(4):756-757.

[15] 黄少君,孙升云,徐梅,等.淫羊藿对早期兔膝骨性关节炎软骨的影响[J].暨南大学学报(自然科学与医学版),2014,35(3):273-278.

[16] DORMAN LJ, TUCCI M, BENGHUZZI H. In vitro effects of bmp-2, bmp-7, and bmp-13 on proliferation and differentiation of mouse mesenchymal stem cells[J]. *Biomed Sci Instrum*, 2012, 48(9):81-87.

[17] ADLER N, SCHOENIGER A, FUHRMANN H. Effects of transforming growth factor-beta and interleukin-1 β on inflammatory markers of osteoarthritis in cultured canine chondrocytes[J]. *Am J Vet Res*, 2017, 78(11):1264-1272.

[18] 赵晋,闫振宇,张立智.骨性关节炎软骨和软骨下骨之间信号通路[J].中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志,2016,9(2):193-198.

[19] MCCUBREY JA, STEELMAN LS, CHAPPELL WH, et al. Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascade inhibitors: how mutations can result in therapy resistance and how to overcome resistance[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(10):1068-1111.

[20] RASHEED Z, ALSHOBAILI HA, RASHEED N, et al. MicroRNA-26a-5p regulates the expression of inducible nitric oxide synthase via activation of NF- κ B pathway in human osteoarthritis chondrocytes[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2016. DOI: 10.1016/j.abb.2016.02.003.

[21] SHUI XL, LIN W, MAO CW, et al. Blockade of IL-17 alleviated inflammation in rat arthritis and MMP-13 expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(10):2329-2337.

[22] WANG XN, GE X, LI J, et al. B cell receptor signaling pathway involved in benign lymphoepithelial lesions of the lacrimal gland[J]. *Int J Ophthal*, 2017, 10(5):665-669.

[23] 刘顺会,肖兰凤,黄树林. T细胞受体信号转导通路的动力学分析[J].数理医药学杂志,2008,21(6):641-646.

[24] 刘鑫馗,吴嘉瑞,蔺梦娟,等.基于网络药理学的四君子汤作用机制分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(16):194-202.

(收稿日期:2017-11-15 修回日期:2018-02-09)

(编辑:刘萍)