

乌头汤治疗骨关节炎作用机制的网络药理学研究^Δ

骆 帝^{1*}, 梁学振¹, 刘金豹¹, 许 波¹, 李 刚^{1,2#} (1. 山东中医药大学第一临床医学院, 济南 250355; 2. 山东中医药大学附属医院显微骨科, 济南 250014)

中图分类号 R274.9; R932 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)19-2632-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.19.09

摘要 目的: 研究乌头汤治疗骨关节炎的作用机制, 为骨关节炎的治疗提供新的方向与靶点。方法: 以口服生物利用度(OB) \geq 30%、类药性(DL) \geq 0.18 为指标, 借助中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)筛选乌头汤中川乌、麻黄、黄芪、白芍与甘草的活性成分; 通过检索治疗靶点数据库(TTD)等数据库和挖掘基因表达数据库(GEO)中的芯片数据获取骨关节炎的作用靶点; 利用生物学信息注释数据库(DAVID)对靶点基因进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果: 从乌头汤中共筛选出活性成分 30 个, 包括槲皮素、丁子香酚、梔子醇等, 与骨关节炎相关的作用靶点 31 个, 包括 β_2 肾上腺素能受体、花生四烯酸 5-脂氧合酶、雄激素受体等。乌头汤治疗骨关节炎的生物过程与白细胞介素 1 受体信号转导、过氧化物酶增殖激活受体的协同激活作用、酪氨酸激酶受体 2 的信号转导作用等有关。乌头汤主要通过调节肿瘤坏死因子信号通路、血管内皮生长因子信号通路、破骨细胞分化信号通路、核转录因子 κ B 信号通路、Toll 样受体信号通路等发挥治疗骨关节炎的作用。结论: 本研究采用网络药理学分析了乌头汤治疗骨关节炎的潜在作用机制, 可为进一步研究乌头汤治疗骨关节炎的药效物质基础及作用靶点提供参考。

关键词 骨关节炎; 乌头汤; 网络药理学; 作用机制; 中药系统药理学数据库及分析平台

Network Pharmacology Study on the Mechanism of Wutou Decoction in the Treatment of Osteoarthritis

LUO Di¹, LIANG Xuezhen¹, LIU Jinbao¹, XU Bo¹, LI Gang^{1,2} (1. First School of Clinical Medicine, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China; 2. Dept. of Microscopic Orthopaedics, the Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250014, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the mechanism of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis, and to provide a new direction and target for the treatment of osteoarthritis. **METHODS:** Using oral bioavailability (OB) \geq 30%, drug like (DL) \geq 0.18% as index, active components were screened from Wutou decoction by using TCM systematic pharmacological analysis platform (TCMSP), such as *Aconitum carmichaelii*, *Ephedra sinica*, *Astragalus propinquus*, *Paeonia tactilora*, *Glycyrrhiza uralensis*. Targets of osteoarthritis were obtained by retrieving therapeutic targets database (TTD) and mining chip data from gene expression database (GEO). Target genes were analyzed by GO and KEGG pathway enrichment analysis were performed by using DAVID database. **RESULTS:** A total of 30 active components were screened, including quercetin, terpenoids and gardenol; 31 targets related to osteoarthritis were obtained, including β_2 adrenergic receptor, arachidonate 5-lipoxygenase and androgen receptor. The biological process of Wutou decoction in treatment of osteoarthritis was mainly related to the IL-1 receptor signal transduction, synergistic activation of peroxidase proliferation activated receptor, signal transduction of tyrosine kinase receptor 2. It mainly regulated tumor necrosis factor signaling pathway, vascular endothelial growth factor signaling pathway, osteoclasts differentiation signaling pathway, nuclear factor κ B signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway so as to play a role in the treatment of osteoarthritis. **CONCLUSIONS:** The study analysis the potential mechanism of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis based on network pharmacology, which can provide reference for further study on the material basis and target of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis.

KEYWORDS Osteoarthritis; Wutou decoction; Network pharmacology; Mechanism; TCMSP

骨关节炎是临床常见难治疾病, 属于祖国医学“骨痹”范畴, 其发病以在全身与局部综合因素下导致的软

骨基质崩解, 软骨细胞数量降低, 伴有周围骨质增生为特点^[1], 确切病因与发病机制尚未明确。现代医学临床主要治疗手段为非药物治疗、药物治疗与外科治疗, 但是非药物治疗效果并不确切; 镇痛药、非甾体抗炎药、糖皮质激素等长期服用存在如消化道出血、心血管风险等副作用; 而外科手术治疗又存在费用高等问题^[2]。因此, 亟待探索新的安全替代治疗方案。

传统中医药历史悠久, 经过长期的经验积累与临床

^Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81774333, No.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。电话: 0531-68617088。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。电话: 0531-68617088。E-mail: doctorlee808@163.com

实践检验,具有疗效确切、安全稳定与接受度高等诸多优势,逐渐成为许多疑难疾病临床治疗与新药开发的研究热点^[3-4]。乌头汤出自医圣张仲景所著《金匮要略》,原文载述“病历节不可屈伸疼痛,乌头汤主之”。全方由麻黄、白芍、黄芪、甘草、制川乌5味中药组成,具有温经通络、除湿止痛的功效,被历代医家广泛用于骨关节炎的治疗^[5],笔者将其应用于临床也取得了令人满意的疗效。但因中药复方成分众多,作用多通路与多靶点关系网复杂,现有检测技术手段普遍存在花费高昂、灵敏度低、尚无行业统一标准规范等问题,故无法精准、可靠地揭示中药复方作用机制^[6-7]。

得益于生物信息学、计算机、网络与大数据技术的发展,网络药理学作为一门研究药物的新学科得以创立,尤其是在整体性与系统性的特点与中医药不谋而合^[8],为中药方剂潜在活性成分与作用靶点的进一步研究开辟了新道路。基于此,本研究基于网络药理学,通过数据挖掘与分析,筛选和系统预测乌头汤活性成分治疗骨关节炎的潜在作用靶点和信号通路,以期骨关节炎的治疗提供新的方向与靶点。

1 材料与方法

1.1 数据库、软件及分析平台

本研究使用的数据库、软件及相关分析平台见表1。

表1 数据库及软件

Tab 1 Database and software

序号	名称	网址	版本
1	中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)	http://isp.nwu.edu.cn/tcmsp.php	2.3
2	美国国家生物技术信息中心(NCBI)	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds	更新于2016.07.27
3	基因表达数据库(GEO)	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/	更新于2016.07.26
4	治疗靶点数据库(TTD)	http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp	更新于2010.11.05
5	药物银行(DrugBank)	https://www.drugbank.ca/	5.1.3
6	在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)	http://www.omim.org/	更新于2019.05.23
7	遗传关联数据库(GAD)	https://geneticassociationdb.nih.gov/	更新于2014.01.09
8	药物遗传学和药物基因组学知识库(PharmGKB)	https://www.pharmgkb.org/	4.0
9	疾病基因数据库(DisGeNET)	http://www.disgenet.org/web/DisGeNET/	更新于2019.05
10	人类表型本体论(HPO)	https://hpo.jax.org/app/	1.5.0
11	Cytoscape	https://cytoscape.org/	3.2.1
12	R语言	https://www.r-project.org/	3.6.0
13	生物学信息注释数据库(DAVID)	https://david.ncicrf.gov/	6.8
14	蛋白质相互作用数据库(String)	https://string-db.org/	11.0

1.2 乌头汤中5味中药的活性成分收集与筛选

中药在口服后进入人体消化道后,要经过吸收、分布、代谢与排泄生理过程,即药动学特性(ADME)^[9-10]。在TCMSP中检索乌头汤中5味中药的相关化学成分的ADME参数,利用药物重要的定性指标口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)与类药性(Drug like, DL)进行初步筛选,以获得5味中药的活性成分,筛选标准为OB \geq 30%, DL \geq 0.18^[11-12]。

1.3 乌头汤作用靶点的预测与活性成分-靶点网络图的构建

通过TCMSP靶点预测模型预测乌头汤中5味中药活性成分的作用靶点,采用生物网络可视化和分析软件Cytoscape 3.2.1分别绘制5味中药的活性成分与作用靶点的网络图和乌头汤活性成分-靶点网络图,其中用“节点(Node)”分别表示中药、活性成分与靶点,用“边(Edge)”表示中药、活性成分与靶点的相互作用关系^[13],靶点对应的成分越多,其度值也就越大,提示该靶点的重要性可能相对越高。

1.4 筛选骨关节炎的作用靶点

以“Osteoarthritis”为关键词,通过筛选TTD、Drug-Bank、OMIM、GAD、PharmGKB、DisGeNET与HPO 7个数据库获得骨关节炎的相关靶点。

在GEO数据库样本中以“Osteoarthritis”为关键词检索相关芯片,获取编号为GSE43923的芯片数据原始文件和GPL570的芯片基因注释文件,该芯片数据中包含了6个关节软骨样本,其中3名来自骨关节炎患者,健康对照3名。使用R语言对芯片的原始数据加以分析,采用多阵列平均分析(Robust multiarray average, RMA)算法进行背景校正和矩阵数据归一化处理,利用Limma程序包分析芯片数据的差异基因,将显著差异基因的筛选条件设定为P<0.05,差异倍数(Fold change, FC)>2;运用Plot程序包绘制芯片原始的火山图。最终获得骨关节炎的差异表达基因。

最后,将7个数据库获得的骨关节炎靶点与R语言分析芯片获得的差异表达基因取交集,即获得已明确的骨关节炎的相关靶点。

1.5 DAVID富集分析

将“1.3”项下获得的乌头汤治疗骨关节炎的相关靶点与“1.4”项下获得的骨关节炎疾病的相关靶点取交集,即可得到乌头汤治疗骨关节炎的关键靶点。

DAVID数据库是一个具有全面功能注释、可视化和集成发现的数据库工具,可完成基因表达数据的批量处理与注释、基因本体论(Gene ontology, GO)及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析。利用DAVID在线分析工具对上述关键靶点进行功能富集分析,运用R语言gg-Plot 2程序包绘制气泡图,图中气泡越大则代表信号通路的基因数目越多,与该通路的重要性成正比。

1.6 构建关键靶点的蛋白质-蛋白质相互关系

STRING数据库是一款在线检索相互作用基因与蛋白的网络数据库。将“1.5”项下获取的关键靶点输入搜索栏,并对结果进行整合,借助软件Cytoscape 3.2.1构建乌头汤治疗骨关节炎关键靶点蛋白互作(Protein-protein interaction, PPI)网络图。

2 结果

2.1 乌头汤中5味中药的活性成分收集

通过TCMSP数据库共获得乌头汤中川乌、麻黄、黄芪、白芍、甘草5味中药的相关成分642个,其中满足

OB \geq 30%的成分共有224个,满足DL \geq 0.18的成分共有169个。根据ADME参数筛选标准,同时满足OB \geq 30%与DL \geq 0.18的成分共有122个。

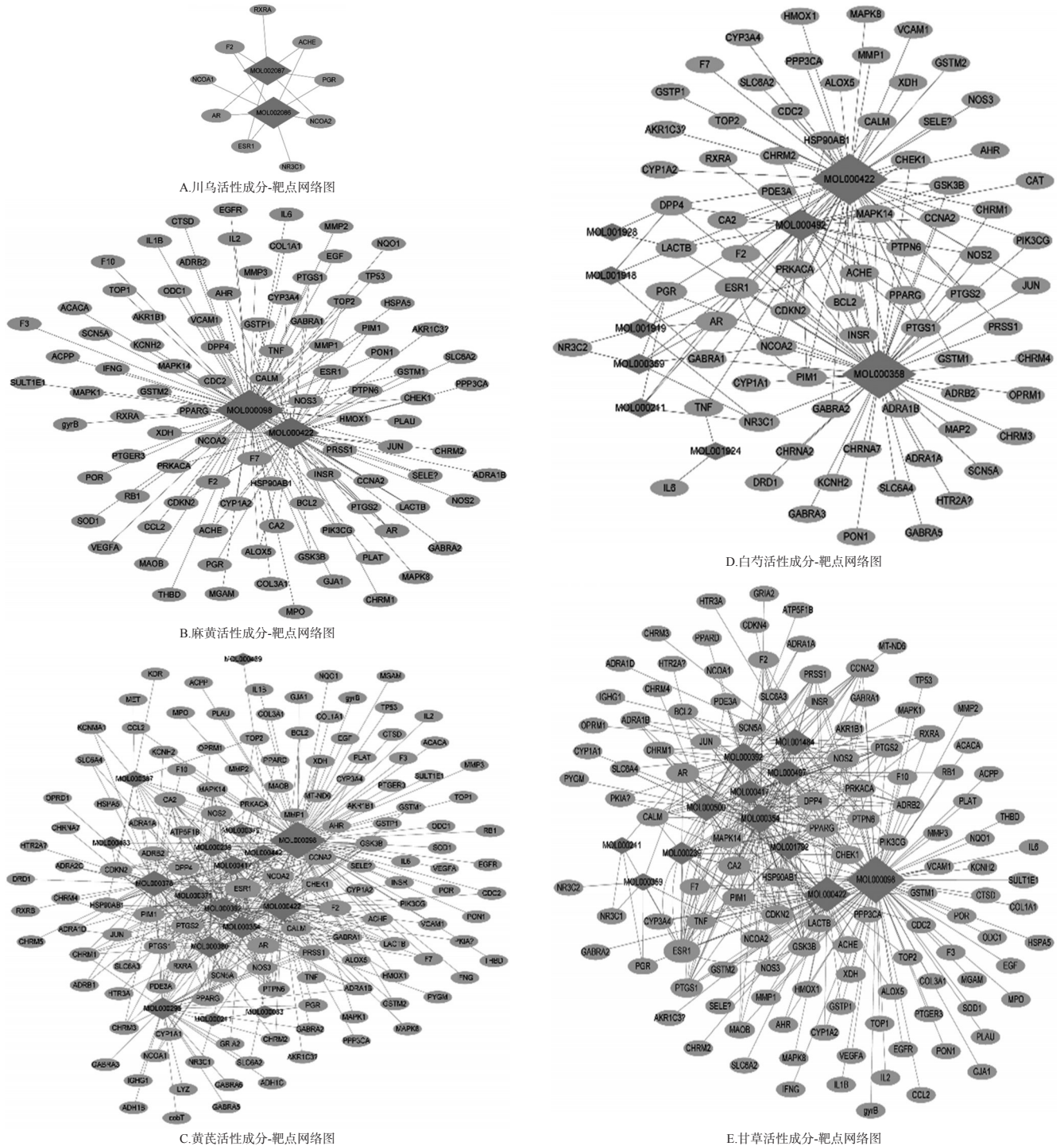
2.2 乌头汤作用靶点的预测与活性成分-靶点网络图的构建

利用Cytoscape 3.2.1软件分别构建了5味中药的活性成分与作用靶点的网络图,见图1。经TCMSP数据库

靶点预测模型配对分析后得到有对应靶点的活性成分共30个,详见表2;再利用Cytoscape 3.2.1软件构建乌头汤活性成分-靶点网络图,其中乌头汤活性成分与作用靶点存在708个相互关系,乌头汤治疗骨关节炎相关作用靶点138个,乌头汤活性成分-靶点网络图见图2。

2.3 骨关节炎的作用靶点

通过TTD等7个数据库分别获得骨关节炎疾病相



注:菱形图标表示活性成分;椭圆图标表示靶点

Note: Rhombus icon represents active ingredient; ellipse icon represents target

图1 乌头汤中5味中药的活性成分-靶点网络图

Fig 1 Active components-target network of five traditional Chinese medicines in Wutou decoction

关靶点 35、1、61、97、2、80、33 个,取并集并删除重复项后获得骨关节炎疾病靶点 227 个。

表2 乌头汤活性成分基本信息

Tab 2 General information of active components in Wutou decoction

编号	成分代码	活性成分	OB, %	DL
1	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-二甲基-17-[(2R,5S)-5-丙基-2-基辛醇-2-基]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十二氢环戊烷[a]菲-3-醇	36.23	0.78
2	MOL000098	槲皮素	46.43	0.28
3	MOL000211	丁香香萜	55.38	0.78
4	MOL000239	梔子醇	50.83	0.29
5	MOL000296	常春藤皂苷元	36.91	0.75
6	MOL000354	异鼠李素	49.60	0.31
7	MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75
8	MOL000359	谷甾醇	36.91	0.75
9	MOL000371	3,9-二甲氨基索林	53.74	0.48
10	MOL000378	7-邻甲基异藜多糖	74.69	0.30
11	MOL000379	9,10-二甲氧基龙脑香-3-O- β -D-葡萄糖苷	36.74	0.92
12	MOL000380	(6ar,11ar)-9,10-二甲氧基-6a,11a-二氢-6H-苯并呋喃[3,2-c]咯-3-醇	64.26	0.42
13	MOL000387	联苯双酯	31.10	0.67
14	MOL000392	芒柄花素	69.67	0.21
15	MOL000417	花萼素	47.75	0.24
16	MOL000422	山柰酚	41.88	0.24
17	MOL000433	脂肪酸	68.96	0.71
18	MOL000439	异麦芽糖醇-7,2'-二邻葡萄糖苷	49.28	0.62
19	MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫穗烯	39.05	0.48
20	MOL000492	(+)-儿茶素	54.83	0.24
21	MOL000497	甘草查尔酮a	40.79	0.29
22	MOL000500	维斯体素	74.66	0.21
23	MOL001484	山槐素	75.18	0.54
24	MOL001792	食脂素	32.76	0.18
25	MOL001918	芍药苷元	87.59	0.37
26	MOL001919	(3S,5R,8R,9R,10S,14S)-3,17-二羟基-4,4,8,10,14-五甲基-2,3,5,6,7,9-六氢-1H-环戊菲-15,16-二酮	43.56	0.53
27	MOL001924	芍药苷	53.87	0.79
28	MOL001928	白芍苷 _{qt} (albiflorin _{qt})	66.64	0.33
29	MOL002086	1-[(5R,8R,9S,10S,12R,13S,14S,17S)-12-羟基-10,13-甲基-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊烷[a]菲-17-基]乙酮	33.47	0.42
30	MOL002087	4,16-雌甾烷-3-酮	37.63	0.31

芯片 GSE43923 的原始数据文件中包含了 6 个关节软骨样本,将 3 名骨关节炎患者的骨赘软骨组织与 3 名健康人的软骨组织进行对比。借助 R 语言分析共获得 331 个显著改变与影响的基因(删除重复项后为 307 个),其中上调基因数为 256 个,下调基因数为 75 个,绘制骨关节炎差异基因的火山图,详见图 3。

将 7 个数据库获得的骨关节炎靶点与 R 语言分析芯片获得的差异表达基因取交集,再与乌头汤中 5 味中药活性成分的作用靶点取交集,即获得已明确的乌头汤治疗骨关节炎的关键靶点 31 个,详见表 3。

2.4 DAVID 富集分析

采用 DAVID 在线数据进行 GO 和 KEGG 通路分析,将获得的前 10 位 GO 生物过程与 KEGG 通路按 P 值升序排列,并以气泡图的形式展现出来。结果,乌头汤治疗骨关节炎的 GO 生物过程见图 4,乌头汤治疗骨关节炎

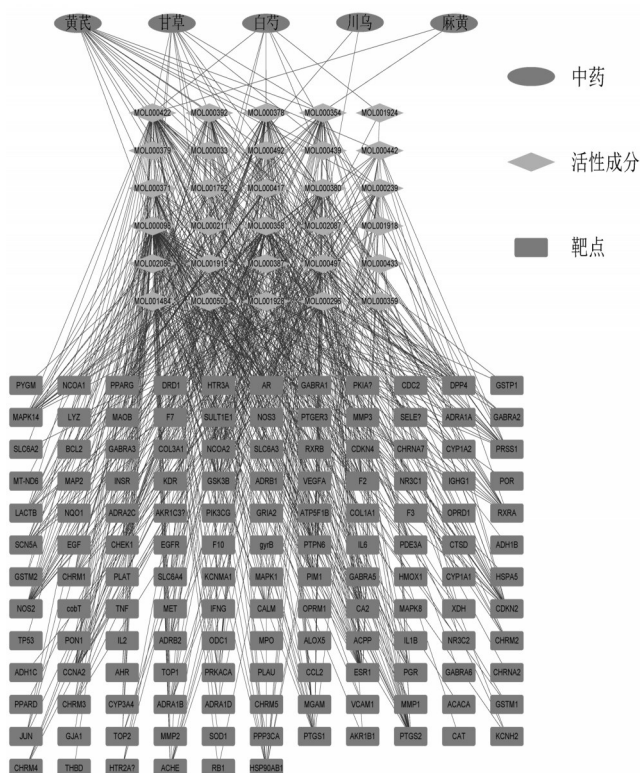


图2 乌头汤活性成分-靶点网络图

Fig 2 Wutou decoction active component-target network

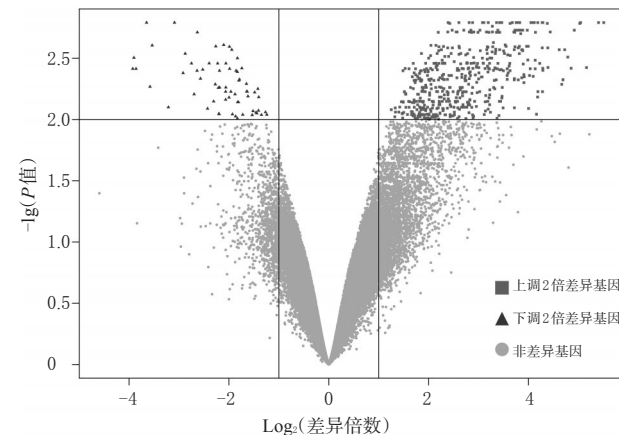


图3 骨关节炎差异基因的火山图

Fig 3 Volcanic map of osteoarthritis differential genes

的 KEGG 通路见图 5。

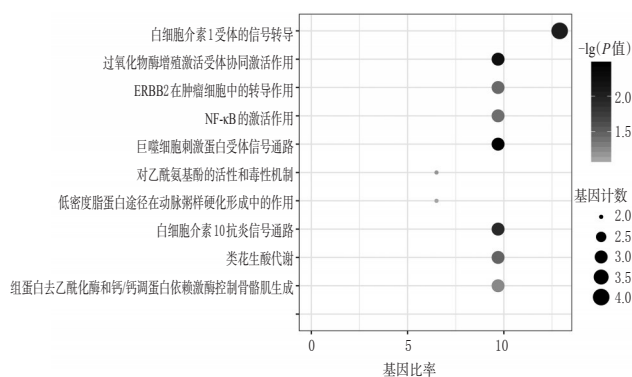
由图 4 可知,乌头汤治疗骨关节炎的 GO 进程主要有白细胞介素 1 受体的信号转导、过氧化物酶增殖激活受体的协同激活作用、ERBB2 在肿瘤细胞中的转导作用、核转录因子 κ B(NF- κ B)的激活作用、巨噬细胞刺激蛋白受体的信号通路等。

由图 5 可知,乌头汤治疗骨关节炎的 KEGG 通路主要有肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、血管内皮生长因子信号通路、破骨细胞分化信号通路、NF- κ B 信号通路、Toll 样受体信号通路、甲状腺激素信号通路、磷酸酰肌醇

表3 乌头汤治疗OA关键靶点基本信息

Tab 3 Key target of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis

序号	靶点英文名	缩写	靶点中文名
1	Beta-2 adrenergic receptor	ADRB2	β2肾上腺素能受体
2	Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	花生四烯酸5-脂氧合酶
3	Androgen receptor	AR	雄激素受体
4	Bcl-2	BCL2	B淋巴细胞瘤2
5	C-C motif chemokine 2	CCL2	C-C基序趋化因子2
6	Collagen alpha-1(I) chain	COL1A1	胶原蛋白α1(I)链
7	Collagen alpha-1(III) chain	COL3A1	型胶原α1(III)链
8	Cathepsin D	CTSD	组织蛋白酶D
9	Estrogen receptor	ESR1	雌激素受体
10	Glutathione S-transferase Mu 1	GSTM1	谷胱甘肽S-转移酶Mu 1
11	Glutathione S-transferase P	GSTP1	谷胱甘肽S-转移酶P
12	Heme oxygenase 1	HMOX1	血红素加氧酶1
13	Interleukin-1 beta	IL-1β	白细胞介素1β
14	Interleukin-6	IL-6	白细胞介素6
15	Mitogen-activated protein kinase 14	MAPK14	丝裂原活化蛋白激酶14
16	Interstitial collagenase	MMP1	间质胶原酶
17	72 kDa type IV collagenase	MMP2	72 kDa的IV型胶原酶
18	Stromelysin-1	MMP3	雌激素1
19	Myeloperoxidase	MPO	髓过氧化物酶
20	Nuclear receptor coactivator 1	NCOA1	核受体辅活化子1
21	Nuclear receptor coactivator 2	NCOA2	核受体辅活化子2
22	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit gamma isoform	PIK3CG	磷脂酰肌醇4,5-二磷酸3-激酶催化亚单位γ亚型
23	Urokinase-type plasminogen activator	PLAU	尿激酶型纤溶酶原激活剂
24	Serum paraoxonase/arylesterase 1	PON1	血清对氧磷酶/芳酯酶1
25	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	PPARG	过氧化物酶体增殖物激活受体γ
26	Serine/threonine-protein phosphatase 2B catalytic subunit alpha isoform	PPP3CA	丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶2B催化亚单位α亚型
27	Prostaglandin G/H synthase 1	PTGS1	前列腺素G/H合成酶1
28	Prostaglandin G/H synthase 2	PTGS2	前列腺素G/H合成酶2
29	Tumor necrosis factor	TNF	肿瘤坏死因子
30	Cellular tumor antigen p53	TP53	细胞肿瘤抗原p53
31	Vascular endothelial growth factor A	VEGFA	血管内皮生长因子A



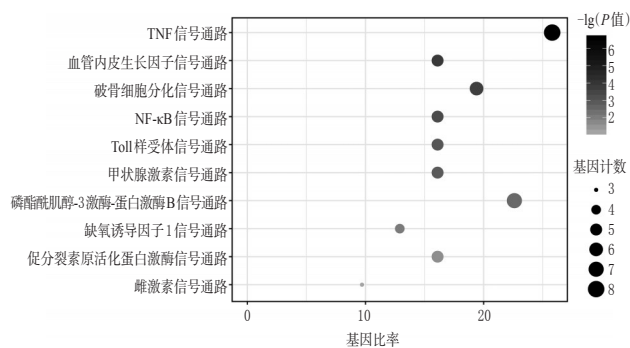
注：圆点颜色越深表示该GO生物过程富集越显著；圆点越大表示该GO生物过程越重要

Note: The significance of GO enrichment in biological processes is proportional to the depth of dot color. The importance of GO biological processes is proportional to the size of dots

图4 乌头汤治疗骨关节炎的GO生物过程

Fig 4 GO biological process of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis

3激酶-蛋白激酶B(PI3K-Akt)信号通路、缺氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、促分裂素原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路及雌激素信号通路。



注：圆点颜色越深表示KEGG通路富集越显著；圆点越大表示KEGG通路越重要

Note: The enrichment significance of KEGG pathway is proportional to the depth of dot color. The importance of KEGG pathway is proportional to the size of the dot

图5 乌头汤治疗骨关节炎的KEGG通路

Fig 5 KEGG pathway of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis

2.5 构建关键靶点PPI网络图

乌头汤治疗骨关节炎关键靶点PPI网络图见图6。

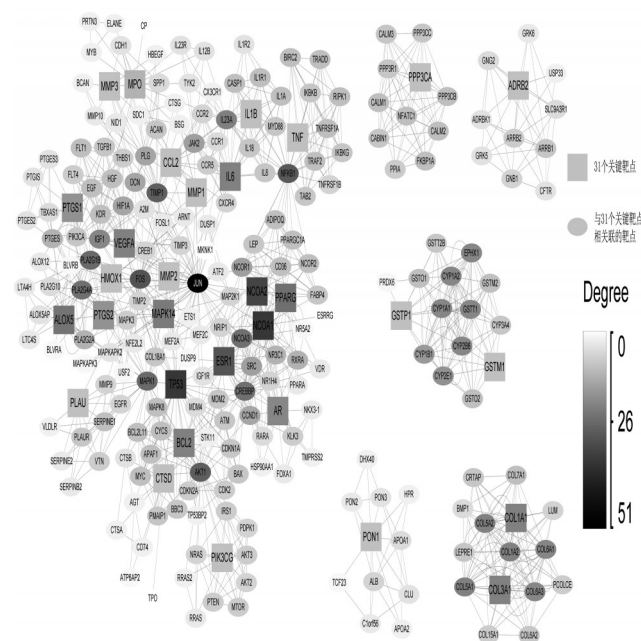


图6 乌头汤治疗骨关节炎关键靶点PPI网络图

Fig 6 PPI network plot of Wutou decoction in the treatment of osteoarthritis

由图6可知,31个关键靶点之间相互作用关系数为40个;共挖掘出214个靶点与关键靶点存在直接或者间接关系。运用Cytoscape 3.2.1软件中Network Analyzer插件工具对每个节点进行相关网络参数分析,其中度值的大小与其重要程度呈正相关,故图中节点颜色越深则代表其重要程度越大。

3 讨论

骨关节炎是导致中老年人丧失运动能力的常见疾病,给患者身心与经济带来沉重负担,在全球老龄化的大趋势下,其发病率逐年增加^[14]。目前,骨关节炎尚缺乏有效直接的治愈手段,但可以通过有针对性的个性化诊疗方案以达到缓解疼痛、改善运动功能、延缓疾病进展、提高生活质量的目的。中医学一般将骨关节炎归于“骨痹”范畴,其基本病机为本虚标实,多因机体精血不足、阳虚血瘀,风寒湿外邪趁虚而入,导致筋脉痹阻、气血凝滞、骨骼失养、日久成痹^[15-16]。乌头汤由东汉名医张仲景创制,为历代所推崇治疗骨关节炎的代表方剂。本研究初步筛选出乌头汤中的槲皮素、谷甾醇、丁香香萜、(+)-儿茶酚、芍药昔元等30个活性成分,最终挖掘出乌头汤治疗骨关节炎的31个关键靶点并绘制出与之关联的214个靶点和1 172个相互关系的复杂网络图,证明了中药方剂中的有效成分与其作用的靶点之间不仅存在密切的协同关系,而且从侧面反映出中医药治疗疾病具有多成分、多靶点、多路径的特色,这与中医整体观念与辨证施治思想不谋而合。

从DAVID对31个关键靶点富集分析结果可知,乌头汤主要通过干预细胞周期、炎症与内分泌等相关通路而发挥治疗骨关节炎的作用。(1)在细胞周期相关通路方面:①研究证实^[17-18],血管内皮生长因子在活动性关节炎中存在高表达现象,进而促进血管内皮增生,为炎症因子的聚拢提供条件,与骨关节炎的炎症密切相关;②破骨细胞在局部炎症因子与细胞因子的刺激下,其活性升高,大量增殖、分化与成熟,骨代谢平衡被打破,软骨下骨重塑增加导致骨关节炎进展^[19-20];③NF- κ B信号通路被激活后,可诱导滑膜细胞生成大量细胞因子、趋化因子与基质金属蛋白酶,导致关节软骨分解加剧^[21-22]。④PI3K-Akt信号通路已被证实是参与抗软骨凋亡的重要路径,其中Akt在该通路中承担核心作用,而PI3K仅发挥传输信号的媒介作用^[23-24]。⑤HIF-1已被研究证明在细胞缺氧状态下广泛参与能量代谢、血管生成、pH调控与细胞周期等生理进程,并且还涉及软骨组织的疾病有重要调控作用^[25-26]。⑥软骨细胞作为能合成软骨基质的唯一细胞,一旦病变释放出的炎症因子激活MAPK信号通路,最终可引发基质金属蛋白酶升高、软骨细胞凋亡与软骨破坏等病理反应^[27-28]。(2)在炎症相关通路方面:①TNF- α 在骨关节炎软骨蜕变中激活多种参与软骨基质降解的酶,此外TNF- α 可诱导白细胞介素的产生,而反之又可促进TNF- α 的活性,从而加速软骨破坏^[29-30]。②在骨关节炎早期Toll样受体表达即偏高并伴随关节肿痛与关节积液等症状,此外还有研究证实其在滑膜细胞与关节软骨中均可被检测到^[31]。(3)在内分泌相关

通路方面:①甲状腺激素在人体发育过程中,无论是整个童年和成人阶段,几乎在所有组织中都发挥广泛和复杂的作用。有研究确认了甲状腺激素代谢在关节软骨维持和骨关节炎发病中的作用^[32]。②已有研究证实雌激素可以直接作用于骨骼、肌肉与滑膜组织的炎症反应上,雌激素受体更是在关节软骨与骨细胞中广泛表达^[33]。

综上所述,本研究通过综合运用生物信息学与网络药理学的手段,探讨乌头汤治疗骨关节炎可能的关键基因及分子机制,可为治疗骨关节炎提供新的切入点,为深入挖掘其潜在的机制提供参考。不可否认的是本研究尚存在一些局限性,但同时,其也为今后中药方剂关键作用机制的研究和新药的研发提供了新方法、新路径与新方向。

参考文献

- [1] SARZIPUTTINI P, CIMMINO MA, SCARPA R, et al. Osteoarthritis: an overview of the disease and its treatment strategies[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2005, 35(1): 1-10.
- [2] SHEN J, CHEN D. Recent progress in osteoarthritis research[J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 2014, 22(7): 467-468.
- [3] SCHENONE M, DANČÍK V, WAGNER BK, et al. Target identification and mechanism of action in chemical biology and drug discovery[J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(4): 232-240.
- [4] SHEN B. A new golden age of natural products drug discovery[J]. *Cell*, 2015, 163(6): 1297-1300.
- [5] 梅阳阳, 付长龙, 庞书勤, 等. 乌头汤药理药效研究及其干预骨关节炎的机制探讨[J]. *风湿病与关节炎*, 2016, 5(6): 47-50.
- [6] 俞仲毅, 余国姍. 中药现代技术研究的缘起与流行及反思[J]. *上海中医药大学学报*, 2018, 32(3): 1-8.
- [7] 刘昌孝. 对中药现代化及中药国际化发展的思考[J]. *中国药房*, 2016, 27(11): 1441-1444.
- [8] 张彦琼, 李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2015, 29(6): 883-892.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] RU J, PENG L, WANG J, et al. TCMSPP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. *J Cheminform*, 2014, 6(1): 6-13.
- [12] WANG S, WANG H, LU Y. Tianfoshen oral liquid: a CFDA approved clinical traditional Chinese medicine, nor-

- malizes major cellular pathways disordered during colorectal carcinogenesis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8 (9) : 14549-14569.
- [13] LI J, PENG Z, 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: 10.1073/pnas.05302911100.
- [14] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13 (11) : 2498-2504.
- [15] ZHAI Y, GAO GD, XU SY. Basic research progress of knee osteoarthritis[J]. *Zhongguo Gu Shang*, 2012, 25 (1) : 83-87.
- [16] 陈达, 陈后煌, 邵翔, 等. 乌头汤抑制骨关节炎炎症反应的作用机制探讨[J]. *风湿病与关节炎*, 2016, 5(8):62-66.
- [17] YUAN Q, SUN L, LI JJ, et al. Elevated VEGF levels contribute to the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2014, 15(1) : 1-8.
- [18] HAMILTON JL, NAGAO M, LEVINE BR, et al. Targeting VEGF and its receptors for the treatment of osteoarthritis and associated pain[J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31 (5) : 911-924.
- [19] GEURTS J, PATEL A, HIRSCHMANN MT, et al. Elevated marrow inflammatory cells and osteoclasts in subchondral osteosclerosis in human knee osteoarthritis[J]. *J Orthop Res*, 2016, 34(2) : 262-269.
- [20] MARIANNE D, KOMAROVA SV, AJAY B, et al. Monocytes from patients with osteoarthritis display increased osteoclastogenesis and bone resorption: the in vitro osteoclast differentiation in arthritis study[J]. *Arthritis Rheum*, 2014, 65(1) : 148-158.
- [21] HASEEB A, HAQQI TM. Immunopathogenesis of osteoarthritis[J]. *Clin Immunol*, 2013, 146(3) : 185-196.
- [22] WU L, HUANG X, LI L, et al. Insights on biology and pathology of HIF-1 α -2 α , TGF- β /BMP, Wnt/ β -catenin, and NF- κ B pathways in osteoarthritis[J]. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(22) : 3293-3312.
- [23] WANG C, ZENG L, ZHANG T, et al. Tenuigenin prevents IL-1 β -induced inflammation in human osteoarthritis chondrocytes by suppressing PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. *Inflammation*, 2016, 39(2) : 807-812.
- [24] CHEN J, CRAWFORD R, XIAO Y. Vertical inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway for the treatment of osteoarthritis[J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(2) : 245-249.
- [25] FERNÁNDEZTORRES J, MARTÍNEZNAVA GA, GÓMEZQUIROZ L E, et al. Role of HIF-1 α signaling pathway in osteoarthritis: a systematic review[J]. *Rev Bras Reumatol Engl Ed*, 2016, 57(2) : 162-173.
- [26] ZHANG FJ, LUO W, LEI GH. Role of HIF-1 α and HIF-2 α in osteoarthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2015, 82(3) : 144-147.
- [27] WANG D, QIAO J, ZHAO X, et al. Thymoquinone inhibits IL-1 β -induced inflammation in human osteoarthritis chondrocytes by suppressing NF- κ B and MAPKs signaling pathway[J]. *Inflammation*, 2015, 38(6) : 2235-2241.
- [28] GAO SC, YIN HB, LIU H X, et al. Research progress on MAPK signal pathway in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Zhongguo Gu Shang*, 2014, 27(5) : 441-444.
- [29] STANNUS O, JONES G, CICUTTINI F, et al. Circulating levels of IL-6 and TNF- α are associated with knee radiographic osteoarthritis and knee cartilage loss in older adults[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(11) : 1441-1447.
- [30] HUANG J, ZHUO LS, WANG YY, et al. Effects of electroacupuncture on synovia IL-1beta and TNF-alpha contents in the rabbit with knee osteoarthritis[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2007, 32(2) : 115-118.
- [31] ANJALI N, VEERO K, CHARLES BJ, et al. Synovial fluid from patients with early osteoarthritis modulates fibroblast-like synoviocyte responses to toll-like receptor 4 and toll-like receptor 2 ligands via soluble CD14[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 2014, 64(7) : 2268-2277.
- [32] WILLIAMS GR. Thyroid hormone actions in cartilage and bone[J]. *Eur Thyroid J*, 2013, 2(1) : 3-13.
- [33] RICHETTE P, CORVOL M, BARDIN T. Estrogens, cartilage, and osteoarthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2003, 70(4) : 257-262.

(收稿日期:2019-03-21 修回日期:2019-05-27)

(编辑:唐晓莲)

《中国药房》杂志——中国科技核心期刊, 欢迎投稿、订阅