

# 基于网络药理学方法揭示山茱萸作用于骨质疏松的机制

宋慧芳, 贾秀娟\*

青岛大学附属医院老年医学科, 山东 青岛  
Email: 2713475691@qq.com, \*jike919919@126.com

收稿日期: 2021年3月19日; 录用日期: 2021年4月18日; 发布日期: 2021年4月25日

## 摘要

目的: 基于网络药理学与生物信息学方法筛选山茱萸有效活性成分和潜在作用靶点, 构建山茱萸活性成分-作用靶点网络图及蛋白互作用(protein-protein-interaction network, PPI network)网络图。方法: 通过中药系统药理学数据库(TCMSP)检索山茱萸主要活性成分及其潜在的作用靶点, 通过OMIM和Genecards数据库检索骨质疏松相关靶点基因, 利用R软件绘制山茱萸靶点基因与骨质疏松靶点基因的韦恩图。利用Cytoscape3.7.2筛选核心网络, 通过STRING数据库构建PPI网络, 并进行GO功能、KEGG通路的富集分析。结果: 本研究经检索并通过筛选后可得到山茱萸活性成分12个, 与骨质疏松相关的靶点基因30个。并且得到GO功能富集中生物过程485个条目, 细胞组分36个条目, 分子功能58个条目。KEGG富集分析共映射出59条信号通路。结论: 通过生物信息学及网络药理学揭示了山茱萸有效活性成分——多靶点基因-多通路治疗骨质疏松的分子作用机制。

## 关键词

山茱萸, 骨质疏松, 网络药理学, 生物信息学, 作用机制

## Study on Mechanism of *Cornus officinalis* against Osteoporosis Based on Network Pharmacology

Huifang Song, Xiujuan Jia\*

Geriatric Medicine, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong  
Email: 2713475691@qq.com, \*jike919919@126.com

Received: Mar. 19<sup>th</sup>, 2021; accepted: Apr. 18<sup>th</sup>, 2021; published: Apr. 25<sup>th</sup>, 2021

\*通讯作者。

## Abstract

**Objective:** To explore the molecular network regulation mechanism of *Cornus officinalis* in osteoporosis, this study is based on network pharmacology and bioinformatics methods to screen effective active ingredients and potential targets of *Cornus officinalis*, then construct an active component-action target network diagram and protein-protein-interaction network (PPI) diagram of *Cornus officinalis*. **Methods:** The main active ingredients and potential targets of *Cornus officinalis* were retrieved and screened through the Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Target genes of osteoporosis were retrieved through the OMIM and Genecards databases. The R software was used to draw the Venn diagram which was about target genes of *Cornus officinalis* and osteoporosis. Perl software and Cytoscape 3.7.2 were used to construct the active ingredient-action target network diagram of *Cornus officinalis*. The PPI network was constructed through the STRING database, and the core genes of the PPI network were extracted using R software. And we used R language to analyse GO function and KEGG pathway. **Results:** After screening OB and DL in this study, 12 active ingredients of *Cornus officinalis* can be obtained. We found that there are 30 target genes related to osteoporosis among the active ingredient targets. In this study, there were 485 entries in the biological process, 36 entries in cell component analysis, and 58 entries in molecular function analysis. In addition, KEGG enrichment analysis has 59 signal pathways. **Conclusion:** Based on bioinformatics and network pharmacology, it revealed the molecular mechanism of *Cornus officinalis* effective active ingredient-multi-target gene-multi-channel network in the treatment of osteoporosis.

## Keywords

*Cornus officinalis*, Osteoporosis, Network Pharmacology, Bioinformatics, Mechanism

Copyright © 2021 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. 引言

骨质疏松症(Osteoporosis, OP)是一种常见的严重老年性疾病, 是一种全身代谢性骨病, 以骨量减少、骨组织显微结构破坏, 进而骨脆性增高和易发生骨折为特征[1]。骨质疏松好发于老年人, 其患病率随着人群年龄的增加而增高。我国是骨质疏松高发地区, 60岁以上老年人骨质疏松患病率为36%, 其中男性为23%, 女性为49% [2]。随着人口老龄化局势的加剧骨质疏松患者逐渐增多, 预计到2050年, 我国的OP患者将增至2亿以上, 骨质疏松症已经成为全球范围内广泛存在的公共健康问题[3]。药物治疗是应对骨质疏松症积极且有效的手段, 如雌激素、选择性雌激素受体(ER)调节剂、降钙素、双膦酸盐类、甲状旁腺激素、细胞核因子 $\kappa$ B受体活化因子配体(RANKL)、选择性组织蛋白酶K抑制剂等[4]。近年来, 中医药治疗OP的疗效, 特别是在改善患者疼痛及增加骨密度等方面的作用逐渐得到临床认可[5]。中医以“肾”为人的先天之本, 肾主藏精, 精可生髓, 髓则养骨[6]。补肾壮骨经典中药山茱萸, 在上千年的骨质疏松中医临床中被广泛使用[7], 《本草纲目》列山茱萸为滋补上品, 云: “久服可黑发悦颜, 轻身延年”, “能强阴益精, 安五脏, 通九窍, 止小便利。久服, 明目强身延年。治脑骨痛, 疗耳鸣, 补肾气, 兴阳道, 坚阴茎, 添精髓, 止老人尿不节”。山茱萸在中医中被用于骨质疏松的治疗, 但是由于中药内活性成分的多样性与复杂性, 目前对山茱萸治疗骨质疏松的具体作用机制尚不明确[8]。生物信息学与网

络药理学联合可以将中药成分的靶点与疾病的靶点科学地结合在一起, 通过多种数据库可以系统地研究中中药的复杂作用机制。本研究采用生物信息学及网络药理学的方法和理论, 通过 TCMSP、STRING 等数据库, 筛选预测山茱萸的主要化学成分及其潜在作用靶点, 并构建与骨质疏松靶点的关联网络, 进一步进行生物过程和通路富集分析。本文旨在阐明山茱萸治疗骨质疏松的分子机制, 并为山茱萸的相关实验研究及临床应用提供科学可靠的预测依据。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 筛选、预测山茱萸化学成分及作用靶点

利用现有数据库信息和生信技术对山茱萸化学成分及作用靶点进行挖掘。本研究基于中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <http://tcmospw.com/tcmosp.php>)预测中药药物、靶标和疾病之间的关系。在 TCMSP 数据库中检索“山茱萸”, 其拉丁文为 *Cornus officinalis Sieb. Et Zucc.*, 在“Ingredients”模块查找到山茱萸在该数据库中的所有化学成分。山茱萸化学成分筛选参数设置为口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 、类药性(druglike, DL)  $\geq 0.18$ , 并将筛选好的山茱萸化学成分保存下来。继续在 TCMSP 数据库的“Related Targets”模块复制所有山茱萸的靶点保存, 利用 Perl 语言筛选对应化学成分的靶点, 并且运用 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org>)和 Perl 语言对靶点进行基因的注释, 以便于后续分析。

### 2.2. 获取骨质疏松疾病靶点

筛选出骨质疏松疾病的靶点是进行网络药理学的重要一步。本研究以“Osteoporosis”为疾病检索词, 通过 OMIM 数据库(Online Mendelian Inheritance in Man, <http://www.omim.org/>)以及 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)检索出所有与人类骨质疏松相关的作用靶点, 筛选掉重复基因即可得到疾病靶点。

### 2.3. 成分靶点与疾病靶点相互作用

通过对山茱萸化学成分及作用靶点进行分析, 结合骨质疏松疾病靶点的预测进行相互关系的建立。本研究运用 R 软件(vennDiagram 包)确定山茱萸化学成分靶点与骨质疏松疾病靶点的交集, 同时绘制韦恩图, 并将其作为潜在的作用靶点。将对应的山茱萸化学成分及靶点运用 Perl 语言软件输出“network (网络关系)”“type (类型)”“molLists (成分列表)”三个文档, 之后导入 Cytoscape3.7.2 软件中进行可视化操作, 构建山茱萸活性成分-作用靶点网络图, 从而预测出山茱萸参与治疗骨质疏松的活性成分及作用靶点。

### 2.4. PPI 网络图

为明确山茱萸治疗骨质疏松的 PPI 网络中的关键靶点蛋白, 将山茱萸活性成分作用靶点与骨质疏松疾病靶点交集所得基因导入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>), 限定物种物种为“homo sapiens”, 获得山茱萸活性成分靶点 PPI 网络并分析得到核心基因, 将成分-靶点基因输入 Cytoscape3.7.2 软件中的插件 Biogenet, 构建 PPI 网络后分析网络拓扑参数物种设置“homo sapiens”, “Data settings”设置“Protein ProteinInteraction”其数据来源主要包括生物通用知识库(BIOGRID)、相互作用蛋白数据库(DIP)、生物分子相互作用网络数据库(BIND)、分子交互数据库(MINT)、人蛋白质参考数据库(HPRD)和 InAct。然后打开 Cytoscape3.7.2 软件中的插件 CytoNCA, 根据参数度中心性 DC (degree centrality、介度中心性 BC (betweenness centrality)进行筛选得到核心网络。

## 2.5. GO 分析和 KEGG 通路富集分析

为进一步明确山茱萸治疗骨质疏松的生物学功能以及信号通路, 首先运用 R 语言(org.HS.eg.db 包)将调控网络的基因名称转化为基因的 ID, 然后利用 R 语言(colorspace 包、stringi 包、ggplot2 包、DOSE 包、clusterProfiler 包、enrichplot 包)对潜在作用靶点进行 GO 富集分析以及 KEGG 通路富集分析。从生物学途径 (biological process, BP)、细胞组成 (cellular component, CC)、分子功能(molecular function, MF) 三个方面, 并以  $p < 0.05$  为临界值, 对潜在靶点进行 GO 富集分析。进一步运用 Perl 语言软件及 Cytoscape3.7.2 软件构建 KEGG 网络关系。从而预测出山茱萸治疗骨质疏松的潜在的信号通路, 为山茱萸药理学研究提供一定的科学依据。

## 3. 结果

### 3.1. 山茱萸活性成分筛选

通过 TCMSp 数据库检测筛选得到山茱萸的活性成分, 共 226 种化合物, 符合  $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$  的活性成分共 20 种, 具体如表 1 所示。其中 Ethyl oleate (NF)、Leucanthoside、malkangunin、3,4-Dehydrolycopen-16-al、3,6-Digalloylglucose、gallic acid-3-O-(6'-O-galloyl)-glucoside、gemin D、lanosta-8,24-dien-3-ol,3-acetate 这 8 种化合物于骨质疏松无潜在作用靶点。

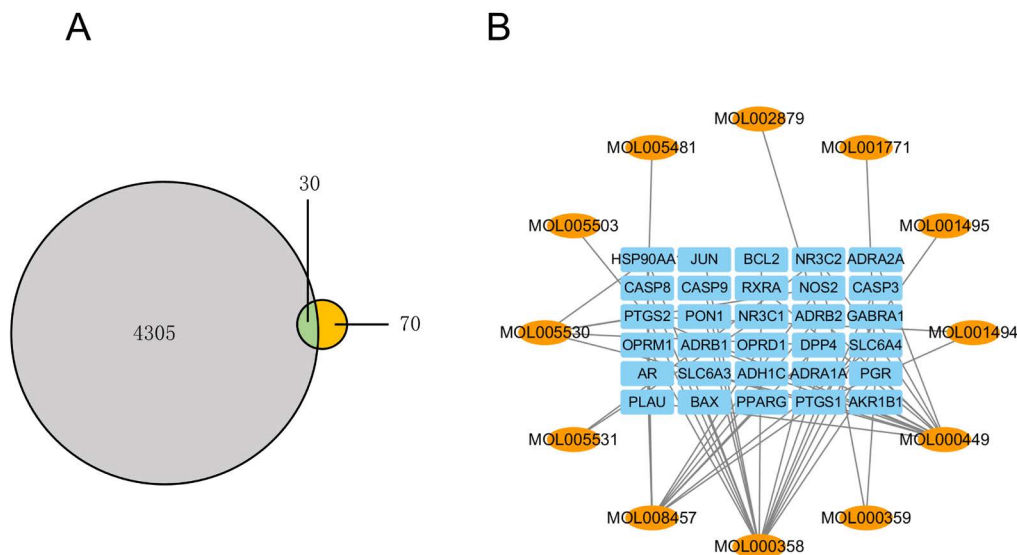
**Table 1.** Bioactive components of *Cornus officinalis* and their OB and DL parameters

**表 1.** 山茱萸生物活性成分及其 OB 和 DL 参数值

| Mol ID    | Molecule name                                      | OB (%) | DL   |
|-----------|--|--------|------|
| MOL001494 | Mandenol   | 42     | 0.19 |
| MOL001495 | Ethyl linolenate                                   | 46.1   | 0.2  |
| MOL001771 | poriferast-5-en-3beta-ol                           | 36.91  | 0.75 |
| MOL002879 | Diop   | 43.59  | 0.39 |
| MOL002883 | Ethyl oleate (NF)                                  | 32.4   | 0.19 |
| MOL003137 | Leucanthoside                                      | 32.12  | 0.78 |
| MOL000358 | beta-sitosterol                                    | 36.91  | 0.75 |
| MOL000359 | sitosterol   | 36.91  | 0.75 |
| MOL000449 | Stigmasterol                                       | 43.83  | 0.76 |
| MOL005360 | malkangunin  | 57.71  | 0.63 |
| MOL005481 | 2,6,10,14,18-pentamethylcosa-2,6,10,14,18-pentaene | 33.4   | 0.24 |
| MOL005486 | 3,4-Dehydrolycopen-16-al                           | 46.64  | 0.49 |
| MOL005489 | 3,6-Digalloylglucose                               | 31.42  | 0.66 |
| MOL005503 | Cornudentanone                                     | 39.66  | 0.33 |
| MOL005530 | Hydroxygenkwanin                                   | 36.47  | 0.27 |
| MOL005531 | Telocinobufagin                                    | 69.99  | 0.79 |
| MOL008457 | Tetrahydroalstonine                                | 32.42  | 0.81 |
| MOL000554 | gallic acid-3-O-(6'-O-galloyl)-glucoside           | 30.25  | 0.67 |
| MOL005552 | gemin D  | 68.83  | 0.56 |
| MOL005557 | lanosta-8,24-dien-3-ol,3-acetate                   | 44.3   | 0.82 |

### 3.2. 山茱萸活性成分 - 骨质疏松作用靶点预测

通过 OMIM、Genecards 数据库检索骨质疏松相关的疾病靶点分别为 42、4273 个, 筛出重复靶点共得到 4305 个疾病靶点, 与 TCMSP 数据库中山茱萸 12 种活性成分的 70 个靶点取交集, 共获得 30 个有关潜在靶点(图 1(A))。并运用 Cytoscape3.7.2 软件构建山茱萸活性成分 - 骨质疏松作用靶点网络图(图 1(B)), 其中 beta-sitosterol 作用靶点 16 个, Stigmasterol 作用靶点 14 个, Tetrahydroalstonine 作用靶点 11 个, 3 者共同作用靶点 3 个:  $\beta_2$  肾上腺素能受体(ADRB2)、前列腺素内过氧化物合酶 1 (PTGS1)以及前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)。



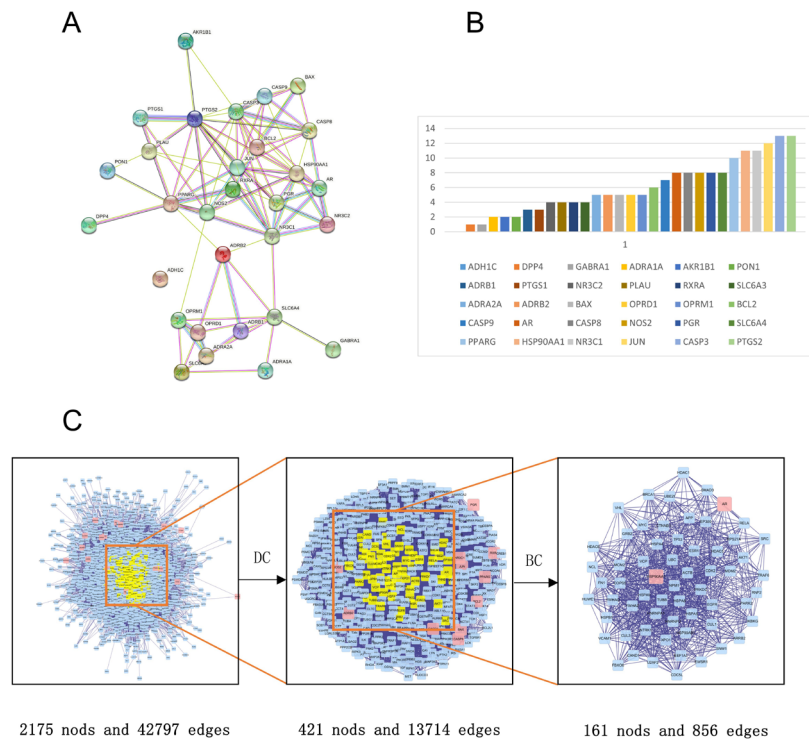
**Figure 1.** Venn plot and network plot of the osteoporosis target-bioactive components of *Cornus officinalis*  
**图 1.** 山茱萸生物活性成分 - 骨质疏松作用靶点韦恩图和网络图

### 3.3. 构建 PPI 网络并筛选关键靶点

基于 STRING 数据库, 将 30 个靶点基因上传后构建山茱萸治疗骨质疏松的 PPI 网络(图 2(A)), 得到核心基因 PTGS3、CASP3、JUN (图 2(B))。为进一步阐明山茱萸活性成分治疗骨质疏松的药理机制, 将靶点输入 Biogenet 插件, 建立潜在的靶点网络(2175 个节点和 42797 个边缘), 将超过所有节点中值的节点视为是网络中的候选目标。根据插件 CytoNCA 的拓扑功能  $DC > 61$  识别候选目标得到靶点网络(421 个节点和 13,714 个边缘), 进一步通过  $BC > 600$  筛选目标得到靶点网络(61 个节点和 856 个边缘)(图 2(C))。详细的拓扑特征和 PPI 网络如图 2(C)所示。

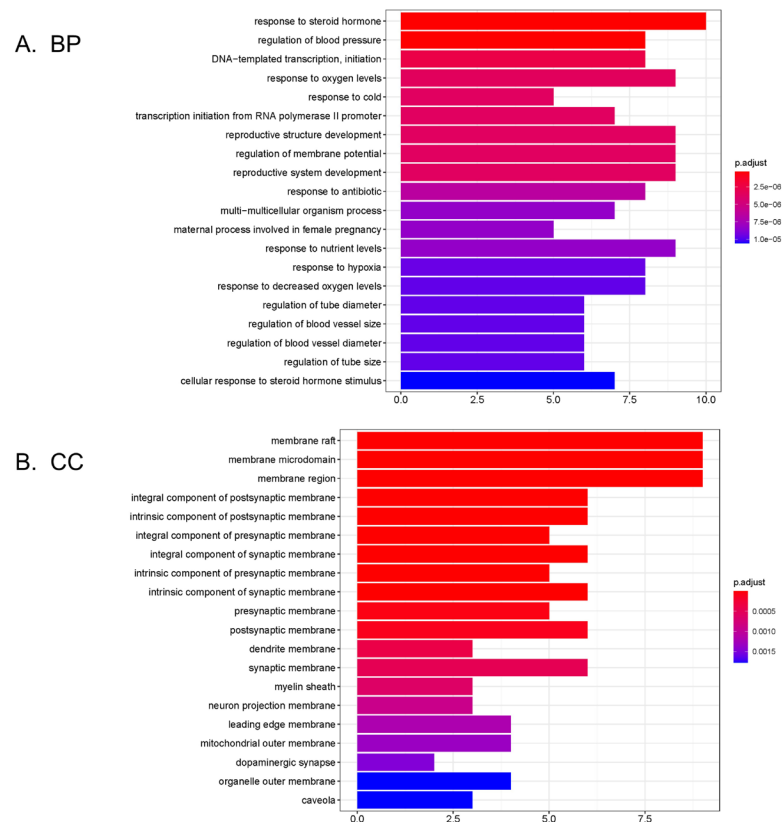
### 3.4. GO 功能富集分析

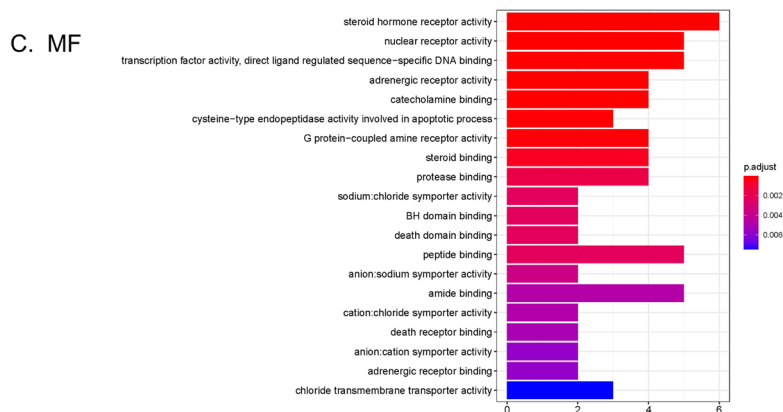
对山茱萸活性成分治疗骨质疏松的靶点从 BP、CC、MF 三个层面进行 GO 功能富集分析( $P < 0.05$ , 图 3(A)~(C)), 其中生物过程 BP 共有 486 个条目, 前 20 条见图 3(A), 发现与类固醇激素、氧水平反应、生殖结构发育、膜电位调节等有关; 细胞组分 CC 分析中共有 37 个条目, 前 20 条见图 3(B), 主要包括膜筏(membrane raft)、膜微结构域(membrane microdomain)、膜区(membrane region)、突触后膜组分(integral component of postsynaptic membrane)等; 而在分子功能 MF 分析中共有 59 个条目, 前 20 条通路见图 3(C), 主要涉及类固醇激素受体活性(steroid hormone receptor activity)、核受体活性(nuclear receptor activity)、肾上腺素能受体活性(adrenergic receptor activity)、儿茶酚胺结合(catecholamine binding)等通路。



**Figure 2.** Treatment of osteoporosis target and key target screening strategy; PPI network construction and screening of key targets

**图 2.** 治疗骨质疏松靶点及关键靶点筛选策略; PPI 网络构建并筛选关键靶点



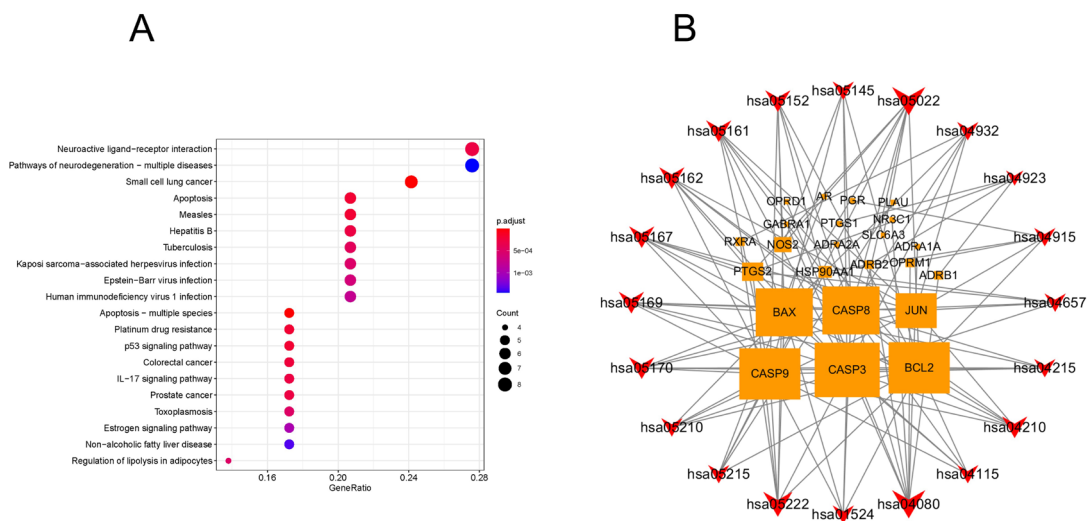


**Figure 3.** GO analysis of active components of *Cornus officinalis* acting on osteoporosis targets. (A) BP analysis; (B) CC analysis; (C) MF analysis

**图 3.** 山茱萸活性成分作用于骨质疏松靶点的 GO 富集分析。(A) BP 富集分析; (B) CC 富集分析; (C) MF 富集分析

### 3.5. KEGG 通路富集分析并构建 KEGG 关系网络图

通过 R 语言将基因的 ID 转化为基因名, 并对其进行 KEGG 通路富集分析, 共富集有 60 条通路, 将其中前 20 个做成气泡图( $P < 0.05$ , 图 4(A)), 提示山茱萸发挥治疗骨质疏松的作用可能与神经活性配体受体相互作用、神经退行性变途径、小细胞肺癌、凋亡通路、p53 信号通路、IL-17 信号通路等相关。进一步通过 Perl 语言提取 KEGG 信号通路中的相关靶点(PTGS2、BCL2、BAX、CASP9、CASP3、RXRA、NOS2、CASP8、JUN、ADRB2、ADRA1A、OPRM1、GABRA1、ADRA2A、ADRB1、NR3C1、OPRD1、HSP90AA1、PLAU、AR、PTGS1、PGR、SLC6A3)和 KEGG 通路的 ID(20 个), 运用 Cytoscape3.7.2 软件构建 KEGG 关系网络图, 并利用连接节点数目的不同定义图形的大小, 以体现不同节点的重要性(图 4(B))。



**Figure 4.** KEGG pathway of *Cornus officinalis* acting on osteoporosis target

**图 4.** 山茱萸作用于骨质疏松靶点的 KEGG 通路

## 4. 讨论

在骨质疏松的治疗研究中, 中药因其疗效显著、毒副作用小、适合长期使用而独具优势[9]。目前越来越多的中草药被用于防治骨质疏松, 作为收涩药, 山茱萸被用于骨质疏松的治疗。国内研究学者许俊

萍, 陈涛[10]探索了山茱萸防治骨质疏松症的作用机制, 通过分析山茱萸对小鼠骨质疏松模型骨形态学影响发现, 山茱萸治疗组在骨皮质厚度、骨小梁面积、骨细胞数目等方面与空白对照组相比均有显著性差异, 表明山茱萸确实能改善小鼠的骨质疏松状况。

本研究筛选出对山茱萸 20 种活性成分, 并通过对 12 种有效成分的潜在靶点与骨质疏松潜在靶点进行预测, 发现有 30 个共同靶点。活性成分-靶点网络图显示,  $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇、四氢鸭脚木碱等有效成分可以作用于多个靶点。相关研究结果表明[11],  $\beta$ -谷甾醇能直接影响成骨细胞骨保护素与破骨细胞分化因子的比率(OPG/ODF), 促进成骨的进程, 并且  $\beta$ -谷甾醇具有类雌激素的生物学功效, 其可以诱导卵巢颗粒细胞 E2 的形成, 进一步促进骨细胞膜雌激素受体结合, 推动成骨作用。Srivastava 等[12]研究发现, 雌激素可通过抑制细胞核因子  $\beta$  受体活化因子配体的生物学活性, 抑制破骨细胞的生物学活动, 从而起到防止骨质疏松的作用。关键作用靶点有:  $\beta 2$  肾上腺素能受体(ADRB2)、前列腺素内过氧化物合酶 1 (PTGS1)以及前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)。1) 临床流行病学研究[13]表明,  $\beta$  肾上腺素能受体阻滞剂可以显著提高用药人群的骨密度、降低用药人群的骨折风险, Pasco 等[14]在对 569 例发生意外骨折的女性患者使用  $\beta$  肾上腺素能受体拮抗剂, 发现其能增加骨密度, 降低骨折的危险性。国内学者通过体内、外模型研究得出: 成骨细胞上的  $\beta 2$  肾上腺素能受体影响骨形成指标胰岛素样生长因子 I (IGF-I)mRNA 的表达, 间接影响了骨形成因子 IGF-I 的促进骨形成能力, 从而调节骨代谢[15]。2) 前列腺素内过氧化物合酶 1 以及前列腺素内过氧化物合酶 2 均为前列腺素合成的主要限速酶, 前列腺素可以诱导巨细胞集落刺激因子以及 RANKL 的表达, 促进破骨细胞分化, 抑制成骨细胞功能[16], 这可能是山茱萸重要作用靶点。3) 此外孕酮受体(PGR)与多个有效活性成分相关联, 研究显示孕酮可使人成骨细胞和人成骨肉瘤 MG-63 细胞胰岛素受体底物(IRS)mRNA 表达上调, 低剂量激素补充治疗绝经后骨质疏松[17], PGR 也是山茱萸的重要靶点。

30 个共同靶点通过 STRING 构建 PPI 网络, 得到核心基因 PTGS3、CASP3、JUN。其中 Caspases3 是一种具有切割蛋白供血的生物酶, 这种酶会引起细胞结构崩解, 当 CASP3 被激活时, 细胞死亡将不可被逆转[18]。刘嘉眉等[19]研究发现, CASP3 影响绝经后骨质疏松症发病机制, 在骨质疏松症组的案例中 CASP3、CASP9 含量增加, 这表明在骨质疏松症的成骨细胞凋亡过程中, Caspases3 依赖性凋亡途径激活。有相关研究结果表明[20], 药物的干预可以诱导相关信号通路及 Caspases3 的激活来引导软骨细胞的凋亡。进一步将靶点通过拓扑参数评估其中 degree 值前 5 的骨质疏松有关靶点为热休克蛋白 90 $\alpha$ -A1 (heat shock protein 90-alpha A1, HSP90AA1)、热休克蛋白 90 $\alpha$ -B1 (heat shock protein 90 alpha B1, HSP90AB1)、酪氨酸激酶受体 1 (neu-rotrophic tyrosine kinase receptor type 1, NTRK1)、肿瘤蛋白 p53 (Tumor protein p53, TP53)、泛素化连接酶 E3 蛋白(Cullin-3, CUL-3), 推测山茱萸主要通过这些潜在靶点发挥防治骨质疏松的功效。

通过 GO 功能富集分析, 类固醇激素及其受体水平与山茱萸治疗骨质疏松相关程度较高。类固醇激素是由肾上腺皮质分泌的一类具有神经活性的甾体激素, 由于类固醇激素可以抑制肠钙吸收及骨钙、磷重吸收, 导致继发性甲状旁腺机能亢进, 出现骨形成减少、骨吸收增, 长期大量使用会给机体带来众多严重不良反应, 尤其是骨质疏松症的发生往往不易被觉察[21]。经 GO 功能富集分析, 靶点 PGR、NR3C2、RXRA、NR3C1、AR、PPARG 富集提示山茱萸治疗骨质疏松主要通过调节类固醇激素机制, 由于山茱萸有效成分  $\beta$ -谷甾醇具有类雌激素的生物学功效, 其调节 PGR 机制有助于治疗骨质疏松, 尤其是女性绝经后骨质疏松。其次研究显示, 骨细胞、成骨细胞、破骨细胞以及软骨组织上亦存在盐皮质激素受体, 应用螺内酯等醛固酮受体拮抗剂干预后, 骨形成增加, 骨吸收减少, 盐皮质激素对糖皮质激素引起的骨质疏松有调节作用[22], NR3C1、NR3C2 作为盐皮质激素受体编码基因提示山茱萸对于继发性骨质疏松, 尤其是水盐代谢紊乱引起的骨质疏松具有特殊治疗靶点。



通过分析 KEGG 富集结果, 筛选出山茱萸影响骨质疏松的相关通路有神经活性配体受体相互作用、神经退行性变途径、小细胞肺癌、凋亡通路、p53 通路、IL-17 信号通路等。KEGG 富集分析得出, 山茱萸治疗骨质疏松不仅包括上文分析的由类固醇激素受体(NR3C1、PGR、AR)以及肾上腺素能受体(ADRB1、ADRB2、ADRA1A、ADRA2A)参与的神经活性配体受体相互作用通路, 凋亡通路以及 p53 通路在山茱萸治疗骨质疏松通路中也尤为重要。通过分析 KEGG 关系网络图, BCL2、BAX、CASP9、JUN、CASP3、CASP8 作为重要的靶点参与凋亡通路以及 p53 通路, 骨组织作为一种不断重建的组织, 其数量很大程度上取决于构成该组织的活性细胞数量, 骨质疏松症的发生与骨系细胞的异常凋亡有关[23]。CASP3、CASP9 与绝经后骨质疏松症发病密切相关, 在骨质疏松症组中的案例两者含量增加, 这表明在骨质疏松症组的成骨细胞凋亡过程中, Caspases 相关因子参与的凋亡通路发挥重要的生物学作用, 进而影响骨质疏松发生发展进程, 这有可能是山茱萸作用于靶点, 从而对骨质疏松的发生发展进行干预。此外神经受体相互作用通路中雌激素可以促进破骨细胞以及破骨前体细胞的凋亡, 从而维持正常的骨转换状态[24], 说明在治疗骨质疏松通路中神经受体相互作用通路与凋亡通路是息息相关的。

由以上可得知, 本研究通过网络药理学分析显示山茱萸有多个活性成分, 涉及到复杂的生物信息传导通路, 揭示了山茱萸多成分-多靶点-多通路的特点。通过 PPI 的构建可以预测出山茱萸与骨质疏松相关的作用靶点蛋白, 这是分析山茱萸防治骨质疏松的一个新思路。我们筛选出 12 种有效活性成分, 30 个治疗靶点, 通过 GO 以及 KEGG 富集分析得出神经活性配体受体相互作用通路以及凋亡通路可能是山茱萸治疗骨质疏松的关键通路。此研究中, 山茱萸治疗骨质疏松具体作用靶点还需要进行进一步的体内、体外实验水平的验证, 其作用通路与预测的通路是否有对应均需要进一步实验才可以得到科学实践的支撑。生物信息学和网络药理学可以快速分析出药物靶点, 为科学实践提供了循证证据, 本文系统地阐明山茱萸治疗骨质疏松的干预和影响, 为其临床应用及基础研究提供新的科学依据。

## 参考文献

- [1] Maraka, S. and Kennel, K.A. (2015) Bisphosphonates for the Prevention and Treatment of Osteoporosis. *BMJ*, **351**, h3783. <https://doi.org/10.1136/bmj.h3783>
- [2] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2017) [J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017, 10(5): 413-443.
- [3] Yuan, L.Q., Xiao, L., Dan, X., Peng, Y.Q., Sheng, Z.F., Wu, X.P., *et al.* (2015) Epidemiology and Management of Osteoporosis in the People's Republic of China: Current Perspectives. *Clinical Interventions in Aging*, **10**, 1017-1033. <https://doi.org/10.2147/CIA.S54613>
- [4] 陶亚军. 骨质疏松药物治疗的研究进展[J]. 医学综述, 2016, 22(9): 1715-1718.
- [5] 张倩, 王花欣, 王媛, 等. 中药防治绝经后骨质疏松症的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(7): 1083-1088.
- [6] 中国老年学学会骨质疏松委员会中医药与骨病学科组. 中医药防治原发性骨质疏松症专家共识[J]. 糖尿病临床, 2016, 10(12): 559-564.
- [7] 潘扬, 王天山. 植物山茱萸化学成分的研究概况[J]. 南京中医药大学学报, 1998(1): 61-62.
- [8] 张志宏, 邢娜, 彭东辉, 王秋红, 匡海学. 中药抗骨质疏松作用及机制的研究进展[J]. 中国药房, 2021, 32(3): 374-379.
- [9] 张华, 魏合伟, 冯新送, 等. 中医对原发性骨质疏松症的认识及辨证施治研究[J]. 中医正骨, 2001, 13(3): 606.
- [10] 陈涛. 山茱萸水提液对骨质疏松模型小鼠骨形态学影响[J]. 天津药学, 2003(4): 5-6.
- [11] Zeng, L.P., Xu, X.Z., Rao, H., *et al.* (2012) Regulation of  $\beta$ -Sitosterol in Duzhongye on Homeostasis of Bone Metabolism. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, **23**, 1051-1053.
- [12] Srivastava, S., Toraldo, G., Weitzmann, M.N., Cenci, S.C. and Pacifici, R. (2001) Estrogen Decreases Osteoclast Formation by Down-Regulating Receptor Activator of  $\text{nf-}\kappa\text{b}$  Ligand (Rankl)-Induced JNK Activation. *Journal of Biological Chemistry*, **276**, 8836-8840. <https://doi.org/10.1074/jbc.M010764200>

- [13] 和渝斌, 何冰娟, 刘立新, 等. 不同  $\beta$  受体阻滞药对老年男性原发性高血压骨质代谢的影响[J]. 临床药物治疗杂志, 2012(5):13-16.
- [14] Pasco, J.A., Henry, M.J., Sanders, K.M., Kotowicz, M.A., Seeman, E. and Nicholson, G.C. (2004)  $\beta$ -Adrenergic Blockers Reduce the Risk of Fracture Partly by Increasing Bone Mineral Density: Geelong Osteoporosis Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, **19**, 19-24. <https://doi.org/10.1359/jbmr.0301214>
- [15] 彭莉, 李双庆.  $\beta_2$  肾上腺素能受体激动剂/拮抗剂对大鼠 OB IGF-I 受体 mRNA 表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(5): 490-494.
- [16] Wong, R. and Rabie, A. (2010) Effect of Quercetin on Bone Formation. *Journal of Orthopaedic Research*, **26**, 1061-1066. <https://doi.org/10.1002/jor.20638>
- [17] 黄秋霞, 周后德, 杜巍, 等. 雌二醇和孕酮对人成骨细胞胰岛素受体底物基因表达的时间与剂量依赖性[J]. 中华老年医学杂志, 2005, 24(10): 775-778.
- [18] Yuan, C.Q. and Ding, Z.H. (2002) Activation and Function of Caspases in Apoptosis. *Progress in Physiology*, **33**, 220-224.
- [19] Liu, J., Li, Y. and Geriatrics, D.O. (2015) Effects of Caspase Proteins and Bcl-2 Protein of Osteoblasts on Pathogenesis of Postmenopausal Osteoporosis. *Chinese Journal of Joint Surgery (Electronic Edition)*, **9**, 780-783.
- [20] Qi, Z., Li, W., Jiang, L.T., et al. (2016) Effects of Bisphosphonates on the Expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3 in Condylar Cartilage of Osteoporosis Rats. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, **20**, 3970-3976.
- [21] Lane, N.E. and Lukert, B. (1998) The Science and Therapy of Glucocorticoid-Induced Bone Loss. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, **27**, 465-483. [https://doi.org/10.1016/S0889-8529\(05\)70017-7](https://doi.org/10.1016/S0889-8529(05)70017-7)
- [22] 樊长萍, 侯建明. 原发性醛固酮增多症与骨质疏松症的相关性[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2016, 9(2): 199-204.
- [23] 李靖, 王全平. 细胞凋亡与骨质疏松关系的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2001, 21(5): 305-307.
- [24] 谢肇, 李起鸿. 绝经后骨质疏松症的细胞凋亡及其调控机制[J]. 中华老年医学杂志, 2004, 23(6): 436-438.