

基于网络药理学探讨牛膝治疗骨质疏松的潜在有效成分及作用机制^Δ

赵杰^{1*}, 许波¹, 刘金豹¹, 梁学振¹, 张凯博¹, 陈帅², 刘雨晴¹, 李刚^{1#}(1.山东中医药大学第一临床医学院, 济南 250014; 2.山东中医药大学中医学院, 济南 250014)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)22-3090-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.22.13

摘要 目的:探讨牛膝治疗骨质疏松(OP)的潜在有效成分及作用机制。方法:利用中药系统药理学分析平台数据库(TCMSP)筛选牛膝的有效成分,并收集其对应的作用靶点;使用疾病基因综合数据库(DisGeNET)检索与OP相关的靶点;使用TBtools 1.0绘图软件绘制韦恩图,筛选牛膝有效成分与疾病OP的交集靶点;采用Cytoscape 3.6.1软件和STRING数据库进行“药物-成分-疾病-靶点”网络和蛋白质相互作用(PPI)网络的构建与分析,通过DAVID生物信息学资源数据库进行KEGG通路富集分析。结果:共筛选出牛膝有效成分19个,有效成分与疾病OP的交集靶点有32个。“药物-成分-疾病-靶点”网络中,含节点45个[牛膝、OP节点各1个,有效成分11个(19个有效成分中有8个无对应的OP靶点),交集靶点32个]、边119条,其中槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩苷、大黄藤素等为该网络中较为重要的有效成分。PPI网络中,含节点31个(32个交集靶点中有1个与其余蛋白不关联)、边212条,其中白细胞介素6(IL6)、雌激素受体1、丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1)、IL8、MAPK14等为该网络中的核心靶点。KEGG富集通路共67条,涉及类风湿性关节炎、乙型肝炎、Toll样受体信号通路、磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B信号通路、Janus激酶/信号传导及转录激活因子信号通路、核因子κB信号通路等。结论:牛膝中治疗OP的潜在有效成分主要包括槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩苷等,其作用机制可能与参与细胞分化和凋亡、代谢、炎症反应等途径有关,具有多成分、多靶点、多系统的特点。

关键词 牛膝;骨质疏松;网络药理学;有效成分;作用机制

Study on Potential Effective Components and Mechanism of *Achyranthes bidentata* in the Treatment of Osteoporosis Based on Network Pharmacology

ZHAO Jie¹, XU Bo¹, LIU Jinbao¹, LIANG Xuezheng¹, ZHANG Kaibo¹, CHEN Shuai², LIU Yuqing¹, LI Gang¹(1. First Clinical Medical College, Shandong University of TCM, Jinan 250014, China; 2. College of TCM, Shandong University of TCM, Jinan 250014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the potential effective components and mechanism of *Achyranthes bidentata* in the treatment of osteoporosis (OP). METHODS: The effective components of *A. bidentata* were retrieved from the TCMSP database, and corresponding targets of them were collected. The targets related to OP were retrieved from DisGeNET database. TBtools 1.0 mapping software was used to draw the Wayne diagram, and screen the intersecting targets of effective components of *A. bidentata* and disease OP. Cytoscape 3.6.1 software and STRING database were used to construct and analyze the “drug-component-disease-target” network and protein-protein interaction (PPI) network; KEGG pathway enrichment analysis was conducted by using DAVID bioinformatics resource database. RESULTS: A total of 19 effective components were screened from *A. bidentata*, and there were 32 intersecting targets between effective components and disease OP. In “drug-component-disease-target” network, there were 45 nodes [1 for *A. bidentata*, 1 for OP, 11 for effective components (8 of the 19 effective components had no corresponding OP target), 32 for intersecting targets] and 119 edges between nodes; quercetin, kaempferol, wogonin, baicalein and palmatine were important effective components. In PPI network, there were 31 nodes (1 of 32 intersecting targets was not associated with other proteins) and 212 edges, among which IL6, ESR1, MAPK1, IL8 and MAPK14 were the core targets of the network. There were 67 KEGG enrichment pathways, including rheumatoid arthritis, hepatitis B, Toll-like receptor signaling pathway, PI3K/Akt signaling pathway, JAK/STAT signaling pathway, NF-κB signaling pathway and so on. CONCLUSIONS: The main potential effective components of *A. bidentata* in the treatment of OP are quercetin, kaempferol, wogonin, baicalein and palmatine, the mechanism of which may be associated with cell differentiation and apoptosis, metabolism, inflammation reaction, etc. It

has multi-component, multi-target and multi-system characteristics.

KEYWORDS *Achyranthes bidentata*; Osteoporosis; Network pharmacology; Effective components; Effect mechanism

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81774333)

* 硕士研究生。研究方向:骨与关节疾病。E-mail:15698007328@163.com

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

骨质疏松(Osteoporosis, OP)是以单位骨量减少、骨微结构发生退化为特征,骨内有机质和无机质减少,致使骨的弹性降低、脆性增加,极易发生脆性骨折的一种全身性骨骼疾病。OP是继心脑血管疾病、糖尿病、癌症之后,在世界范围内引起学者广泛关注的老年疾病^[1]。OP早期一般无明显症状,但随着疾病的逐渐进展,患者可出现腰背痛、全身骨痛等临床症状,严重者甚至会出现脊柱变形、骨折等不可逆的并发症^[2]。OP在祖国医学中属于“骨痿”范畴,《素问》中记载“肾气热,则腰脊不举,骨枯而髓减,发为骨痿”,中医治疗以补肾益精、活血祛瘀为基本原则^[3]。

牛膝为苋科植物牛膝(*Achyranthes bidentata* Bl.)的干燥根,味苦、酸,性平,归肝、肾经,具有活血通经、补肝肾、强筋骨、利尿通淋、引火(血)下行等功效,可用于治疗经闭、痛经、腰膝酸痛、筋骨无力、淋证、水肿、头痛、眩晕等症^[4]。相关研究表明,牛膝提取物中含有皂苷成分,能有效抑制维甲酸致OP模型大鼠的骨吸收^[5];同时,牛膝醇提取物可促进去卵巢大鼠骨细胞的表达,促进I型胶原蛋白生成和骨细胞形成,从而发挥预防OP的作用^[6]。由此可见,牛膝具有一定的抗OP药理基础。

网络药理学是一种药物设计的新方法,涉及生物信息学、多向药理学、计算机科学等多学科的技术和知识,可多方面地阐释药物治疗疾病的潜在作用机制,能体现药物作用的整体性和系统性^[7]。鉴于此,本研究采用网络药理学方法,从网络数据库中筛选牛膝的有效成分,将有效成分的靶点与OP的疾病靶点进行匹配,筛选出药物作用的交集靶点;对上述交集靶点进行生物信息学分析,并在此基础上分别构建了“药物-成分-疾病-靶点”网络和蛋白质相互作用(PPI)网络,以期为临床使用牛膝治疗OP提供依据,为临床用药提供理论参考。

1 资料与方法

1.1 牛膝有效成分的筛选

利用中药系统药理学分析平台数据库(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)检索牛膝中所含有效成分^[8]。根据药动学原理,以药物口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18(其中,OB是客观评价药物分子口服生物利用度的重要指标,DL则是用以评价药物分子成药性高低的指标)^[9]为标准,筛选牛膝的有效成分。

1.2 牛膝作用靶点与OP疾病靶点的预测

利用TCMSP数据库中的成分靶点预测功能,收集牛膝有效成分的作用靶点。鉴于数据处理的便捷性与标准性,使用Uniprot数据库(<https://www.uniprot.org/>),将靶点的“蛋白名”统一转换为“基因名(Gene name)”^[10]。合并有效成分中重复的作用靶点,并删除无对应基因名的靶点,以便后续PPI网络构建与通路分析。

以“OP”“Osteoporosis”等为关键词,在疾病基因综合数据库(DisGeNET, <http://www.disgenet.org/>)中组合检索与OP相关的靶点(即疾病相关基因)^[11],检索时限截至2019年2月26日。使用TBtools 1.0绘图软件将药物靶点与疾病靶点(以对应蛋白表示)进行映射,并以韦恩图的方式进行展示,初步获得牛膝与疾病OP的交集靶点,即牛膝治疗OP的潜在作用靶点。

1.3 “药物-成分-疾病-靶点”网络的构建与分析

将“1.2”项下所得牛膝有效成分与OP疾病交集靶点的数据输入至Cytoscape 3.6.1软件中,构建“药物-成分-疾病-靶点”网络。其中,节点代表中药牛膝及其有效成分、疾病、靶点等;边代表中药牛膝与成分、成分与靶点、疾病与靶点之间的相互关系。使用该软件的“Network analyzer”插件对上述网络的节点度值进行分析,其值越大,表示该节点在网络中越重要^[12]。

1.4 PPI网络的构建与分析

将“1.2”项下所得交集靶点的数据输入至STRING数据库(<http://string-db.org>)中,将物种定义为“人”,构建牛膝治疗OP的PPI网络。将网络节点与边的信息输入至Cytoscape 3.6.1软件中,进行PPI网络可视化展示。使用该软件的“Network analyzer”插件对上述网络的节点度值进行分析,其值越大,表明该节点在网络中越重要^[12]。将节点度值排序前10位(即前1/3)的节点定义为牛膝治疗OP的关键靶点^[13],并使用Excel 2016软件将分析结果以条形图的形式进行展示。

1.5 KEGG通路的富集分析

以“1.4”项下PPI网络中的所有靶点为对象,使用DAVID生物信息学资源数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行KEGG通路富集分析^[14]。将物种定义为“人”,设置 $P < 0.05$ ^[15]。利用Omicshare云平台(<http://omicshare.com/>)的绘图工具对富集基因数排序前28位的通路进行可视化展示。

2 结果

2.1 牛膝有效成分的筛选结果

TCMSP数据库共收录牛膝化学成分176种,其中OB≥30%的成分40种,DL≥0.18的成分79种,OB≥30%且DL≥0.18的有效成分共19种,包括大黄藤素、槲皮素、β-蜕皮甾酮、豆甾醇、表小檗碱等,详见表1。

2.2 牛膝治疗OP潜在作用靶点的预测结果

共收集到牛膝有效成分作用靶点183个,OP疾病靶点440个,药物与疾病靶点的韦恩图见图1。由图1可见,两者交集靶点共32个,即为牛膝治疗OP的潜在作用靶点。

2.3 “药物-成分-疾病-靶点”网络的分析结果

牛膝治疗OP的“药物-成分-疾病-靶点”网络见图2[图中,“矩形”代表中药牛膝,“菱形”代表OP,“三角形”

表1 TCMSP数据库筛选的牛膝有效成分

Tab 1 Effective components of *A. bidentata* selected from TCMSP database

编号	化合物名称(英文名称)	OB, %	DL
1	多孔甾-7,22-二烯-3 β -醇(Poriferasta-7,22E-dien-3 β -ol)	42.98	0.76
2	二齿苷(Bidentatoside)	31.76	0.59
3	刺苷A(Spinoside A)	41.75	0.40
4	β -蜕皮甾酮(β -ecdysterone)	44.23	0.82
5	小檗碱(Berberine)	36.86	0.78
6	黄连碱(Coptisine)	30.67	0.86
7	汉黄芩素(Wogonin)	30.68	0.23
8	δ 7-豆甾烯醇(δ 7-stigmastenol)	37.42	0.75
9	黄芩素(Baicalein)	33.52	0.21
10	黄芩苷(Baicalin)	40.12	0.75
11	表小檗碱(Epiberberine)	43.09	0.78
12	β -谷甾醇(β -sitosterol)	36.91	0.75
13	海棠果素E(Inophyllum E)	38.81	0.85
14	山柰酚(Kaempferol)	41.88	0.24
15	菠甾醇(Spinasterol)	42.98	0.76
16	豆甾醇(Stigmasterol)	43.83	0.76
17	大黄藤素(Palmatine)	64.60	0.65
18	β -胡萝卜素(β -daucosterol)	36.91	0.75
19	槲皮素(Quercetin)	46.43	0.28

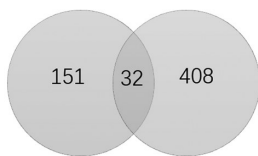


图1 药物与疾病靶点的韦恩图

Fig 1 Wayne diagram of drug and disease targets

代表牛膝的有效成分,“圆形”代表有效成分与疾病的交集靶点(以基因表示)。由图2可见,在该网络中,共包含节点45个,其中牛膝、OP节点各1个,牛膝有效成分节点11个(表1内19个牛膝有效成分中,有8个成分无对应的OP靶点),牛膝治疗OP潜在作用靶点32个;含边119条。槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩苷、大黄藤素的节点度值分别为30、13、12、7、5,为该网络中较为重要的有效成分。

2.4 PPI网络的分析结果

牛膝治疗OP的PPI网络见图3,关键靶点的条形图见图4(图中,RUNX2为骨转录因子;IFNG为干扰素 γ ;CYP3A4、CYP1A1、CYP1B1为细胞色素P₄₅₀亚型;IL6、IL8、IL1A、IL1B为白细胞介素亚型;PPARG、PPARA分别为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 、 α ;BCL2、BAX为凋亡相关蛋白;ICAM1为细胞间黏附分子1;POR为细胞色素P₄₅₀氧化还原酶;ESR1、ESR2分别为雌激素受体1、2;MMP1、MMP2分别为基质金属蛋白酶1、2;NR1I2为核受体亚家族I组成员2;SPP1为血清骨桥素1;COL1A1为I型胶原蛋白;STAT1为转录活化蛋白;ADRB2为 β_2 肾上腺素受体;HIF1A为缺氧诱导因子1 α ;MAPK1、MAPK14分别为丝裂原活化蛋白激酶1、14;MYC为原癌基因蛋白;IGF2为胰岛素样生长因子2;

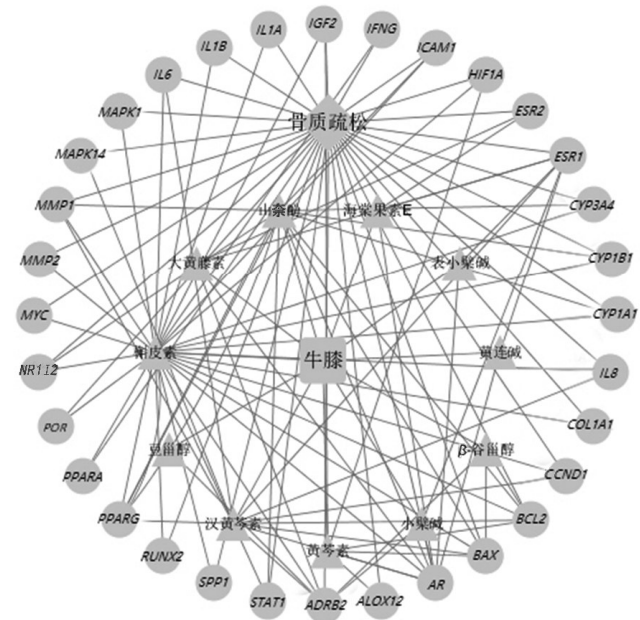


图2 牛膝治疗OP的“药物-成分-疾病-靶点”网络
Fig 2 “Drug-component-disease-target” network of *A. bidentata* in the treatment of OP

CCND1为细胞周期调控因子;AR为雄激素受体)。由图3可见,该网络中共有节点31个[其中,花生四烯酸-12-脂加氧酶(ALOX12)与其余靶点蛋白均不关联,故不在该网络中],边212条。由图4可见,节点度值较高的靶点蛋白包括IL6、ESR1、MAPK1、IL8、MAPK14等,是该网络中的核心节点,可能在牛膝治疗OP中发挥关键作用。

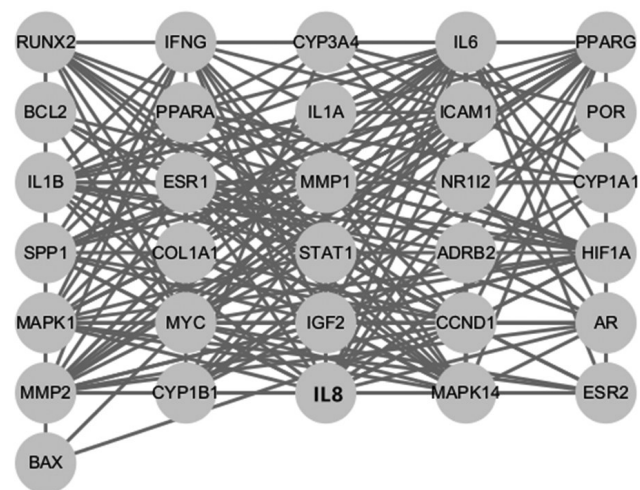


图3 牛膝治疗OP的PPI网络
Fig 3 PPI network of *A. bidentata* in the treatment of OP

2.5 KEGG通路富集分析结果

牛膝治疗OP的31个潜在作用靶点共富集在67条通路上,主要集中在类风湿性关节炎、乙型肝炎、Toll样受体信号通路、破骨细胞分化、磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、Janus激酶/信号传导及转

录激活因子(JAK/STAT)信号通路、核因子κB(NF-κB)信号通路等。富集基因数排序前28位的通路见图5。

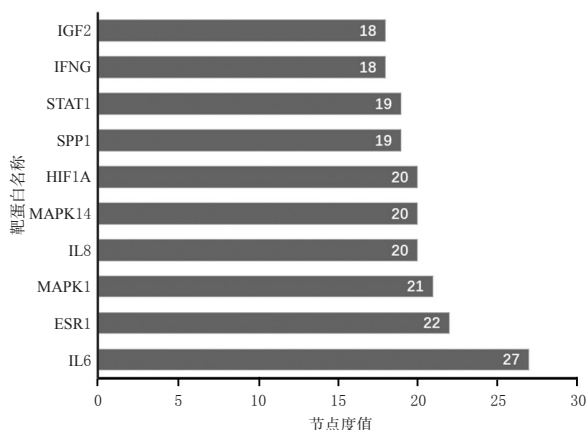


图4 关键靶点(节点度值排序前10位)的条形图

Fig 4 Bar plot of key nodes (top 10 node degree value)

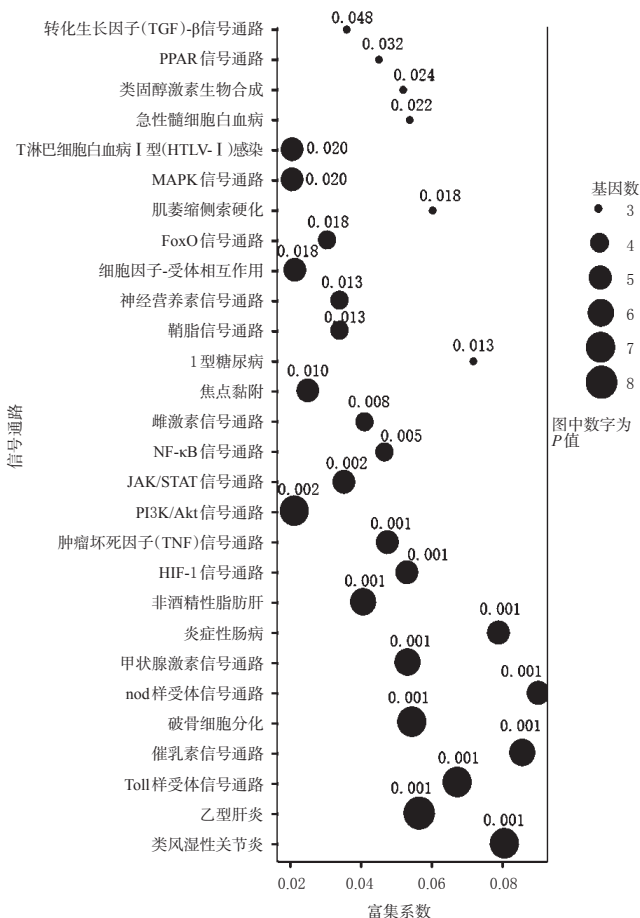


图5 富集基因数排序前28位的信号通路

Fig 5 Signaling pathways of top 28 enrichment gene number

3 讨论

流行病学调查显示,在我国50岁以上人群中,女性OP患病率约为20.7%、男性约为14.4%^[16]。OP的发病受性别及年龄的影响很大,同时还与患者体质量指数、种族、遗传、激素水平和基础疾病等因素密切相关,其起

病隐匿,老年患者致残、致死率均较高^[17]。中医认为,OP的病因病机较为复杂,其发生的根本原因为肾精亏虚、不能濡养骨髓^[18],如《灵枢·经脉》言“足少阴气绝,则骨枯”,《扁鹊心书》言“骨缩病,此由肾气虚惫,肾主骨,肾水既涸则诸骨皆枯,渐至短缩”,《医述·杂证汇参·痹》言“经热则痹,络血则痿,邪中于经则痹,邪中于络则痿也”,可见该症发生的重要病理基础是血瘀^[19]。

机体对疾病的内在调控是一个相当复杂的过程,单一靶点或者单一信号通路并不能发挥治疗作用,需要不同靶点和不同信号通路相互关联、相互协作才能发挥药效^[20]。牛膝作为传统中药材,功擅补肝肾、强筋骨,针对OP人群且正对病机^[21]。本研究TCMSP数据库检索和“药物-成分-疾病-靶点”网络分析结果显示,槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩苷、大黄藤素等成分的节点度值较高,是牛膝的主要有效成分。其中,槲皮素、山柰酚等成分是目前研究的热点之一。郑红等^[22]研究表明,槲皮素是牛膝中的主要活性成分,其不仅具有增加成骨细胞分化的能力,而且还能抑制破骨细胞骨吸收并诱导其凋亡,从而维持骨代谢的平衡,防止OP的进一步发展。丁淑琴等^[23]研究表明,山柰酚可通过影响骨形成标志物碱性磷酸酶及骨吸收关键酶组织蛋白酶K的活性来调节骨的形成与破坏。上述研究结果与本研究基本一致,提示牛膝有效成分具有一定的OP治疗作用。

牛膝治疗OP的PPI网络分析结果显示,31个靶点蛋白中,节点度值排序前10位的依次为IL6、ESR1、MAPK1、IL8、MAPK14、HIF1A、SPP1、STAT1、IFNG、IGF2,可能为牛膝发挥治疗作用的关键靶点。其中,IL6、IL8、IL1A、IL1B等炎症因子的表达在与淋巴细胞、单核细胞分化有关的分泌细胞中发挥着至关重要的作用,是OP进展的重要环节^[24]。ESR1、ESR2可参与骨细胞的代谢过程,并可有效抑制骨细胞的凋亡^[25]。MAPK1、MAPK14可通过促进成骨细胞的增殖与分化、诱导血管内皮细胞的形成来发挥对OP的防治作用^[26]。HIF1A可促进间充质干细胞成骨诱导分化,从而增强机体的成骨能力^[27]。SPP1对骨代谢具有多重调节作用,且对成骨细胞、破骨细胞的增殖与分化具有调控作用^[28]。STAT1可通过参与成骨细胞的凋亡过程来诱导机体骨量的改变^[29]。IFNG能促进细胞外基质合成,促进细胞成骨分化及胶原合成,与成骨活动密切相关^[30]。IGF2受体的介导作用能促进细胞进行有丝分裂,同时还可促进分裂后的细胞进一步分化,在成骨过程中发挥重要作用^[31]。

KEGG通路富集结果显示,牛膝治疗OP的潜在作用靶点编码基因主要富集在类风湿性关节炎、乙型肝炎、Toll样受体信号通路、破骨细胞分化、PI3K/Akt信号通路、JAK/STAT信号通路、NF-κB信号通路等通路上,

主要涉及细胞分化和凋亡、代谢、炎症反应等多种复杂的生物学过程^[32]。(1)细胞分化和凋亡相关通路:细胞的分化和凋亡需要通过多种机制进行调节,以保证机体生命活动的正常运行,与此相关的通路包括PI3K/Akt、JAK/STAT、HIF-1、FoxO、MAPK、TGF- β 等^[33]。其中,PI3K/Akt信号通路及其下游靶蛋白在骨形成及骨重建过程中发挥了重要作用^[34];JAK/STAT信号通道能够对促血管生成因子的表达起到调控作用,从而参与骨细胞的形成及血管生成^[35];HIF-1信号通路是一个低氧信号通路,其能有效加强骨髓间充质干细胞的成骨及成血管分化能力^[36]。(2)代谢相关通路:体内物质可通过内分泌、神经等其他相关系统直接或间接影响/干预骨微环境的建立及稳定^[37]。其中,甲状腺激素信号通路与机体甲状腺水平密切相关,当甲状腺激素分泌亢进时,机体骨代谢将受到影响,骨吸收速度大于骨形成速度,从而导致骨密度降低^[38]。体外过量的类固醇可抑制钙在胃肠道和肾小管中的吸收,使血钙含量明显降低,从而抑制成骨活动并降低骨量,可见类固醇激素生物合成这一通路可能与OP的发生发展有关^[39]。(3)炎症相关通路:炎症因子在OP的发病机制中起着重要作用,可诱导骨质的侵蚀并加速OP的进展^[40],相关通路包括NF- κ B通路、nod样受体信号通路等。其中,NF- κ B与其抑制蛋白 I κ B结合并以复合物的形式存在于体内,当其受到IL1、TNF等炎症因子的刺激时,该复合物会发生降解,随后转移至细胞核内,激活目标基因转录,进而参与慢性炎症的发生^[41];nod样受体能调控半胱氨酸蛋白酶的活化而进一步促进IL1B的分泌,参与炎症反应调控,最终加速OP的进展^[42]。(4)与其他疾病相关的通路:疾病之间存在着微妙的调控机制,不同疾病之间相互关联、相互影响^[43]。如类风湿性关节炎为一种侵袭关节滑膜的炎症性疾病,炎症因子及增生的滑膜组织破坏了关节面软骨及软骨下骨,致使破骨细胞活性增强,从而使骨吸收进程加快^[44];糖尿病患者的高血糖状态会影响胶原蛋白及活性氧的形成,进而影响骨形成的过程,导致OP的发生^[45];非酒精性脂肪肝会引起肝纤维化、胰岛素抵抗、脂肪代谢紊乱等问题,并通过影响多条代谢通路参与骨密度的调节^[46],等等。由此可见,与类风湿性关节炎、糖尿病、非酒精性脂肪肝等疾病相关的通路也有可能成为牛膝治疗OP的靶点。

综上所述,牛膝治疗OP的潜在有效成分主要包括槲皮素、山柰酚、汉黄芩素、黄芩苷、大黄藤素等,上述成分可通过直接或间接参与细胞分化和凋亡、代谢、炎症反应等途径来发挥对OP的治疗作用,具有多成分、多靶点、多系统的特点。基于网络药理学分析可获得牛膝治疗OP的可能有效成分及潜在作用靶点,但本研究仅为预测分析,上述结论及具体作用机制有待后续研究加以

论证。

参考文献

- [1] LAURENT M, LENORE D, DUPONT J, et al. Age-related bone loss and sarcopenia in men[J]. *Maturitas*, 2019. DOI: 10.1016/j.maturitas.2019.01.006.
- [2] 李景龙, 贾义军, 邱功名. 结合雌激素片联合用药治疗绝经后骨质疏松症的临床观察[J]. *中国药房*, 2016, 27(20): 2849-2851.
- [3] 平利峰, 于笑霞, 章鹏, 等. 竖骨胶囊联合常规方案治疗强直性脊柱炎合并骨质疏松的临床观察[J]. *中国药房*, 2014, 25(20): 1864-1867.
- [4] 岳宗进, 刘汝银, 于露, 等. 牛膝总皂苷调控 Nampt/NAD/Sirt1 轴诱导骨髓间充质干细胞向髓核样细胞分化[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(9): 1313-1318.
- [5] 任心慈, 徐先祥, 许杜娟, 等. 牛膝总皂苷对维甲酸致骨质疏松大鼠骨代谢的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(4): 128-130.
- [6] 杨国夫, 宋国胜, 张涛, 等. 牛膝提取物对去卵巢大鼠骨密度、骨转换及 I 型胶原蛋白表达的影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2011, 17(2): 109-112.
- [7] 王延涛, 杨智华, 陈怡, 等. 肉苁蓉治疗骨质疏松作用机制的网络药理学研究[J]. *中国药房*, 2019, 30(5): 645-651.
- [8] HU AN, LIU JF, ZAN JF, et al. Network pharmacology deciphering multiple mechanisms of volatiles of Wendan granule for treatment of senile dementia[J]. *Clin J Pharmacol Toxicol*, 2018, 32(4): 285-286.
- [9] WISHART DS, KNOX C, GUO AC, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008. DOI: 10.1093/nar/gkm958.
- [10] KE H, LIU Y, ZHOU X, et al. Anterior fissureless uniport vs. posterior intra-fissure triple-port thoracoscopic right upper lobectomy: a propensity-matched study[J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(10): 3866-3874.
- [11] WANG J, XIANG JY, YAN YF, et al. Molecular mechanism of aconite-ginger muscle against myocardial ischemia injury based on network pharmacology[J]. *Clin J Pharmacol Toxicol*, 2018, 32(4): 313-314.
- [12] MOMOTA R, OHTSUKA A. Network of anatomical texts (NAnaTex), an open-source project for visualizing the interaction between anatomical terms[J]. *Anat Science Int*, 2018, 93(1): 149-153.
- [13] 周文霞, 王同兴, 程肖蕊, 等. 网络药理学研究中的网络分析技术[J]. *国际药学研究杂志*, 2016, 43(3): 399-408.
- [14] 欧阳雨林. 益心解毒方干预心衰大鼠心肌细胞凋亡机制的药物靶标预测及机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2013.
- [15] 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.

- [16] 蒋建发,孙爱军.中老年女性骨质疏松症流行病学现状、分类及诊断[J].中国实用妇科与产科杂志,2014,30(5):323-326.
- [17] 袁鑫,角建林,吴超,等.恒古骨伤愈合剂对绝经后骨质疏松和骨质疏松性骨折模型树鼯体成分的影响[J].中国药房,2018,29(18):2471-2474.
- [18] 王伟,万雷,柴爽,等.骨质疏松症的中医病因病机和分期治疗[J].中医正骨,2018,30(2):29-30.
- [19] 白璧辉,谢兴文,李鼎鹏,等.近5年来中医体质类型与骨质疏松症相关性研究的现状[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(9):1229-1235.
- [20] 徐森楠,庄莉,翟园园,等.基于网络药理学研究二至丸防治骨质疏松症的物质基础与作用机制[J].中国药理学杂志,2018,53(22):1913-1920.
- [21] 修佳,张卫华,张振凌.牛膝的药理作用及临床应用研究概况[J].中国药房,2008,19(15):1192-1194.
- [22] 郑红,唐薇,角建林,等.槲皮素通过促进成骨分化治疗去势骨质疏松症大鼠的分子机制[J].中药药理与临床,2017,33(5):16-20.
- [23] 丁淑琴,杨风琴,张玮,等.山柰酚治疗去卵巢大鼠骨质疏松的实验研究[J].中国新药杂志,2014,23(24):2925-2929,2932.
- [24] RAPOSO M, BETTENCOURT C, RAMOS A, et al. Promoter variation and expression levels of inflammatory genes IL1A, IL1B, IL6 and TNF in blood of spinocerebellar ataxia type 3(SCA3) patients[J]. *Neuromolecular Med*, 2017, 19(1):41-45.
- [25] KUŹBICKA K, RACHOŃ D, WOZIWODZKA A, et al. Associations of ESR1 and ESR2 gene polymorphisms with metabolic syndrome and its components in postmenopausal women[J]. *Maturitas*, 2018. DOI: 10.1016/j.maturitas.2018.06.017.
- [26] 陈镇秋,洪郭驹,韩晓蕊,等.骨科祛瘀逐瘀方经MAPK/ERK通路诱导血管内皮细胞迁移与血管管腔形成[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(6):747-752.
- [27] 胡宁.缺氧诱导因子-1 α 增强骨形态发生蛋白-9介导的间充质干细胞成骨分化及其机制研究[D].重庆:重庆医科大学,2012.
- [28] 张斌,刘丹,杨浩杰,等.血清骨桥素、TNF- α 水平与类风湿关节炎继发骨质疏松的相关性分析[J].中国地方病防治杂志,2016,31(7):816-820.
- [29] XU X, WEN H, HU Y, et al. STAT1-caspase 3 pathway in the apoptotic process associated with steroid-induced necrosis of the femoral head[J]. *J Mol Histol*, 2014, 45(4):473-485.
- [30] 赵卓杰.血清中骨质疏松相关蛋白分子标志物的筛选研究[D].西安:第四军医大学,2016.
- [31] 周莉,秦娟,陆安伟. LncRNA MALAT1 通过调控 miR-124-3p/IGF2BP1 分子轴促进宫颈癌细胞增殖和转移[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2019,26(2):182-189.
- [32] 梁学振,许波,李刚,等.基于网络药理学和生物信息学补肾活血胶囊抗骨质疏松的分子机制分析[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(6):755-761.
- [33] 王秋实,李平. TGF- β_1 受体1和2在TGF- β_1 调节细胞增殖中的作用[J].中国生物化学与分子生物学报,2017,33(2):122-127.
- [34] 林院,徐杰,罗奋棋,等.基于PI3K/Akt信号通路研究丹酚酸B对成骨细胞骨形成的调控作用[J].中国老年学杂志,2019,39(11):2760-2763.
- [35] JOHANNSON HR, ZYWIEL MG, MARKER DR, et al. Osteonecrosis is not a predictor of poor outcomes in primary total hip arthroplasty: a systematic literature review [J]. *Int Orthop*, 2011, 35(4):465-473.
- [36] 周勇,任菲菲,非凡翔,等.血管内皮生长因子和骨形态发生蛋白2在非创伤性股骨头坏死不同区域的表达[J].中医正骨,2015,11(8):7-10.
- [37] 马涛,王通.运动对废用性骨质疏松大鼠骨代谢和破骨细胞分化OPG-RANKL-RANK系统的影响[J].中国运动医学杂志,2017,36(7):578-585.
- [38] 盛云露,马丹,王思婷,等.不同年龄组男性人群甲状腺功能与骨密度及骨微结构的相关性[J].南京医科大学学报(自然科学版),2017,37(12):1577-1582.
- [39] 高颖,赵东宝.《2017年ACR糖皮质激素性骨质疏松症防治指南》解读[J].中国全科医学,2018,21(6):627-632.
- [40] 徐慧敏,黄传兵,毛古燧,等.炎症因子在类风湿关节炎合并骨质疏松发病机制中的研究进展[J].风湿病与关节炎,2018,7(6):63-67.
- [41] RAN J, MA C, XU K, et al. Schisandrin B ameliorated chondrocytes inflammation and osteoarthritis via suppression of NF- κ B and MAPK signal pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018. DOI:10.2147/DDDT.S162014.
- [42] HOSEINI Z, SEPAHVAND F, RASHIDI B, et al. NLRP3 inflammasome: its regulation and involvement in atherosclerosis[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(3):2116-2132.
- [43] 李刚,许波,梁学振,等.杜仲防治骨关节炎的潜在活性成分及作用机制研究[J].中医正骨,2018,30(9):4-9.
- [44] 曾婷婷,田永建,谭立明,等.类风湿关节炎骨质疏松危险因素分析[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(1):74-78,84.
- [45] 黄燕,杜梦梦,张智海.探讨糖尿病患者的骨转换标志物的变化与骨质疏松的关系[J].中国骨质疏松杂志,2019,25(2):178-181.
- [46] 陈景娴,栾晓军,陈劲松.非酒精性脂肪肝与骨密度关联研究的相关进展[J].中国骨质疏松杂志,2018,24(10):1396-1400.

(收稿日期:2019-02-26 修回日期:2019-09-05)

(编辑:张元媛)