

# 基于网络药理学探讨 大补元煎促进脊柱压缩骨折愈合的机制\*

程胜强<sup>1</sup>, 何 斌<sup>2</sup>, 彭志财<sup>3△</sup>

1 重庆市中医院, 重庆 402160; 2 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091;

3 重庆医科大学附属永川中医院, 重庆 402160

**[摘要]** 目的:通过网络药理学方法探讨大补元煎方促进脊柱压缩骨折愈合的机制。方法:在TCMSP数据库和SwissADME在线平台中筛选大补元煎方的化学成分,并通过Uniprot数据库转换成基因蛋白。在GeneCards、TTD和DisGeNET等数据库中筛选出“Compression fracture of spinal”的相关靶点。使用Venny 2.1得到药物和疾病共有基因,利用STRING和Cytoscape 3.8.2构建PPI(protein-protein interaction, PPI)网络图并通过网络拓扑分析获得关键蛋白靶点。使用Cytoscape 3.8.2的CytoHubb插件中的MCC(maximal clique centrality, MCC)算法筛选出核心基因和核心成分。使用Metascape在线平台进行基因本体论富集分析GO(gene ontology, GO)及京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路功能富集分析。使用R软件对GO及KEGG富集结果绘制条形图及气泡图。使用Cytoscape 3.8.2构建大补元煎方治疗脊柱压缩骨折的通路-基因网络图。结果:大补元煎方中的中药有效活性成分共124个,潜在作用靶点271个,脊柱压缩性骨折相关作用靶点875个,交集基因剔除游离节点77个,核心基因有10个,核心活性成分有7个。GO分析结果显示:炎症反应、细菌反应、血管发育、细胞囊、细胞外基质、膜筏、受体调节活性、转录因子结合、细胞因子受体结合等排名靠前;KEGG分析结果显示,骨折愈合关键基因有:丝裂原活化蛋白激酶1(mitogen-activated protein kinase1, MAPK1)、丝裂原活化蛋白激酶3(mitogen-activated protein kinase1, MAPK3)转化生长因子 $\beta_1$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta_1$ )、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)等;关键通路有:MAPK、磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B(PI3K-AKT signal pathway, PI3K-AKT)、低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)等信号通路。结论:大补元煎方的核心活性成分通过调控细胞因子、生长因子和转录因子,如MAPK1、MAPK3、TGF- $\beta_1$ 、IL-6等因子激活MAPK、PI3K-AKT、HIF-1等信号通路,调节细胞的生成与凋亡,促进新血管生成、成骨细胞的分化,抑制炎症反应、破骨细胞的生成,调整破骨细胞与成骨细胞之间代谢稳态平衡来促进骨折愈合。

**[关键词]** 脊柱压缩性骨折;大补元煎方;网络药理学;骨折愈合;机制研究

**[中图分类号]** R274 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)03-0075-09

## Network Pharmacology-based Exploration into the Mechanism of Promoting the Healing of Spinal Compression Fracture by *Dabuyuan* Decoction

CHENG Shengqiang<sup>1</sup>, HE Bin<sup>2</sup>, PENG Zhicai<sup>3△</sup>

1 Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 402160, China;

2 Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

3 The Affiliated Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China

**Abstract** Objective: To explore the mechanism of promoting the healing of spinal compression fracture by *Dabuyuan* decoction using network pharmacology. Methods: The chemical ingredients of *Dabuyuan* decoction were screened in TCMSP database and SwissADME online platform, and transformed into gene proteins through UniProt database. The relevant targets of "compression fracture spinal of" were screened via GeneCards, TTD and DisGeNET. Venny 2.1 was applied to obtain the shared genes of medicine and disease, STRING and Cytoscape 3.8.2 were utilized to construct PPI network, and network topology was applied to analyze and obtain key protein targets; MCC (maximal clique centrality) algorithm in the CytoHubb plug-in of Cytoscape 3.8.2 was used to screen the core genes and core ingredients. Metascape online platform was utilized to perform functional enrichment analysis of GO and KEGG pathway; R software was applied to draw bar chart and bubble diagram of GO and KEGG enrichment results. Cytoscape 3.8.2 was utilized to construct pathway-gene network diagram of

the decoction in the treatment of spinal compression fracture. Results: There were 124 effective active ingredients of the herbs contained in the decoction, 271 potential targets of action, 875 targets related to spinal compression fracture, 77 free nodes removed by intersection genes, ten core genes and seven core active ingredients. GO analysis results revealed that these factors ranked high, including inflammatory reaction, bacterial reaction, vascular development, cell capsules, extracellular matrix, membrane raft, receptor regulatory activity, transcription factor binding and cytokine receptor binding; KEGG analysis results showed that the key genes of fracture healing were MAPK1, MAPK3, TGF- $\beta_1$  and IL-6; key pathways contained MAPK, PI3K-Akt and HIF-1. Conclusion: The core active ingredients of the decoction could regulate cell production and apoptosis, and promote the neoangiogenesis and osteoblast differentiation, inhibit inflammatory response and the formation of osteoclasts, as well as adjust the metabolic homeostasis balance between osteoclasts and osteoblasts through regulating cytokines, growth factors and transcription factors including MAPK1, MAPK3, TGF- $\beta_1$  and IL-6 to activate signaling pathways like MAPK, PI3K-AKT and HIF-1, so as to promote fracture healing.

**Keywords** spinal compression fracture; *Dabuyuan* decoction; network pharmacology; fracture healing; mechanism study

脊柱压缩骨折后,由于外伤导致患者骨断筋伤、气血逆乱、痰浊瘀滞,使脏腑功能失司,气血失调,肝肾亏虚<sup>[1]</sup>。患者术后需长期卧床,进一步导致纳差、便秘等机体胃肠功能紊乱,加重脾胃虚弱,致使脾肾两虚<sup>[2]</sup>。《医经精义》有“肾藏精,精生髓,髓生骨,故骨者”之语,肾主骨生髓,为先天之本,如肾中精血不足,精亏髓减,筋骨失却濡养,先天不足,则后天失养,脾虚不运,气血无源,肌肉失养,乃至骨痿,从而影响骨折愈合<sup>[3]</sup>,故以健脾补肾<sup>[4]</sup>,脾肾双补法、后天滋先天为治则来促进骨折愈合,拟大补元煎方主之。

大补元煎出自明代《景岳全书》,由人参、炒山药、熟地黄、杜仲、当归、山萸肉、枸杞子、炙甘草组成,具有救本培元、大补气血的功效,为脾肾双补经方。本研究借助网络药理学探索大补元煎方治疗脊柱压缩骨折的作用机制,为临床治疗及下一步基础实验研究提供参考依据。

## 1 研究方法

**1.1 有效成分筛选** 借助中药系统药理学数据库与分析平台,检索人参、山药、熟地黄、杜仲、当归、山萸肉、枸杞子、甘草收集大补元煎组成药物的主要化学成分,并结合文献报道,补充完善信息。对药物的活性成分,按照药物口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 、类药性(drug likeness, DL)  $\geq 0.18$ <sup>[5]</sup>初步进行有效化学成分筛选。将初步筛选得到的有效化学成分通过 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)检索其对应的化学结构,借助其化学结构,在 SwissADME([www.SwissADME.ch](http://www.SwissADME.ch))在线平台,依据 GI absorption 和 Druglikeness(包括 Lipinski、Ghose、Vebe、Egan、Muegge 等 5 个方面)筛选出 GI absorption=high、Druglikeness 至少 2 项为 high

的有效活性成分<sup>[6]</sup>。

**1.2 药物-疾病共同靶点筛选及绘制韦恩图** 首先对符合标准的大补元煎方的有效活性成分借助 Uniprot(<http://www.uniprot.org/>)在线平台查询,获得药物有效成分的作用靶点。其次以“Compression fracture of spinal”为检索词,在 OMIM(<https://www.omim.org/>)、GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、TTD 数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>)、DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)等数据库检索脊柱压缩骨折疾病的靶点。其中, GeneCards 数据库设定 Score 值大于中位数的靶点为潜在靶点<sup>[7]</sup>。对检索到的疾病靶点,删除重复值,取其并集作为疾病的靶点。最后借助 Venny 2.1.0(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)对大补元煎方潜在的作用靶点和疾病靶点取交集,绘制韦恩图。

**1.3 PPI 网络构建** 将韦恩图中交集获得的靶点上传至 STRING 11.0(<https://string-db.org/>)数据库进行蛋白互作(protein protein interaction, PPI)网络构建。

**1.4 核心靶点和核心成分的提取** 使用 Cytoscape 3.8.2 中的 CytoHubb 插件,利用 MCC 算法<sup>[8]</sup>,提取得到相互作用排名靠前的 10 个蛋白,并借助 Cytoscape 3.8.2,构建药物核心活性成分-脊柱压缩骨折核心作用靶点可视化网络图。

**1.5 GO 功能与 KEGG 通路富集分析** 将大补元煎方治疗脊柱压缩骨折的作用靶点输入 Metascape 平台(<http://metascape.org/gp/index.html>),物种设定为“H. sapiens”,  $P < 0.01$ , 最小基因数=3, 富集因子  $> 1.5$ 。将其主要的基因靶点进行 GO 与 KEGG 通路进行富集分析,然后使用 R 软件绘制富

集气泡图。同时使用Cytoscape 3.8.2将KEGG通路所富集的基因靶点进行通路-靶点可视化。

## 2 结果

**2.1 大补元煎方化学成分及靶点收集** 通过TCMSP和SwissADME筛选后发现最终有效活性成分共124个,其中人参9个、当归9个、山药5个、熟地黄5个、杜仲5个、山萸肉4个、枸杞子4个、甘草83个。共收集到2799个潜在作用靶点,其中人参144个、当归96个、山药80个、熟地黄24个、杜仲459个、山萸肉43个、枸杞子207个、甘草1746个。将收集到的靶点通过Uniprot数据库进行基因标准化并去重后共得到270个。在GeneCards、Disgenet、TTD、OMIM等数据库中搜索“Compression fracture of spinal(脊柱压缩性骨折)”。在Genecards数据库中检索到疾病靶点1041个,靶点Relevance Score最高为78.46,最低为0.997,选取中位数6.91为界值,设定Relevance Score>6.91的靶点为潜在作用靶点701个。在Disgenet数据库中搜集到疾病靶点108个,在TTD数据库中搜集到疾病靶点0个,在OMIM数据库中搜集到疾病靶点255个。将在四个数据库中搜集到的靶点合并、剔除重复值,获得与脊柱压缩性骨折相关的疾病靶点875个。为了进一步说明大补元煎对脊柱压缩骨折的作用,将270个大补元煎方化学成分相关作用靶点与877个疾病靶点取交集并建立韦恩图,共获得82个相关靶点,见图1。

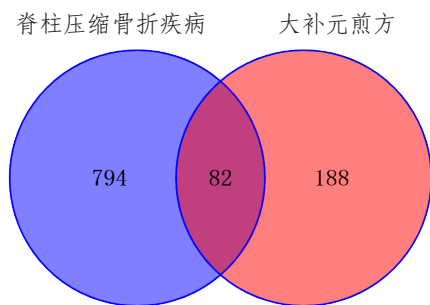


图1 大补元煎方-脊柱压缩性骨折共同靶点韦恩图

**2.2 大补元煎方治疗脊柱压缩骨折靶点筛选及PPI网络构建分析** 将交集靶点提交至STRING 11.0平台,设置置信度的得分界值为0.9,使得最终的构图为高置信的数据;同时,剔除游离节点,共77个靶点。为进一步发现、展示更为重要的PPI网络节点,将该网络信息输出后,借助Cytoscape 3.8.2软件进行构建大补元煎方-脊柱压缩性骨折靶点PPI网络图,见图2。图中圆形节点代表蛋白,度(Degree)值越大,圆形形状越大,圆形颜色越深,表明该蛋白在整个PPI中越重要。

图中显示共有77个节点,396条相互关系。其中连接次数较多的10个靶点分别为转录因子3(signal transducer and activator of transcription 3,STAT3)、原癌基因(Jun proto-oncogene,JUN)、IL-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine-protein kinase AKT1)、MAPK1、MAPK3、肿瘤抑制基因P53(tumor protein P53)、血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A,VEGFA)、热休克蛋白90 $\alpha$ 家族A类成员1(heat shock protein 90 alpha family class A member 1,HSP90AA1)等为关键靶点。

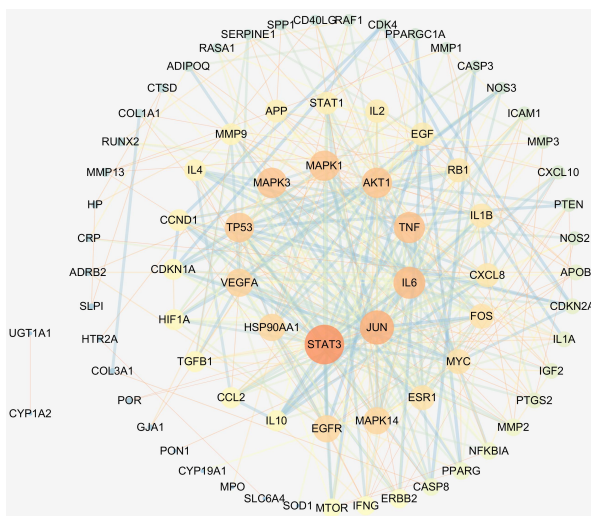


图2 大补元煎方-脊柱压缩性骨折靶点PPI可视化网络图

**2.3 核心活性成分-核心作用靶点的提取** 使用CytoScape 3.8.2中的CytoHubb插件,利用MCC算法,提取得到排名靠前的10个蛋白,将其作为核心基因,见表1。依据10个蛋白,筛选出大补元煎方中与其相对应可能的核心活性成分,见表2。并借助Cytoscape 3.8.2,构建药物核心活性成分-脊柱压缩骨折核心作用靶点可视化网络图,图中绿色六边形代表核心作用靶点,粉色四边形代表核心活性成分,见图3。

**2.4 GO功能富集分析** 通过Metascape富集GO分析显示富集结果共有2007个,包含生物过程(biological process,BP)1835个、细胞组成(cellular component,CC)67个、分子功能(molecular function,MF)105个。利用R软件将排名前20的条目绘制成条形图。结果显示:生物过程(biological process,BP)主要富集在炎症反应、细菌反应、蛋白激酶活性调节、细菌起源分子反应、脂多糖反应、血管发育等排名靠前,见图4。细胞组分(cellular component,CC)的富集结果,



显示的交集基因主要分布细胞囊、细胞外基质、膜筏、膜微区、囊泡等排名靠前,见图5。分子功能(molecular function, MF)富集的结果显示交集

基因主要是对受体调节活性、信号受体激活剂活性、受体配体活性、转录因子结合、细胞因子受体结合等排名靠前,见图6。

表1 MCC算法排名表

排名	基因名称	分数	排名	基因名称	分数
1	转录因子3(STAT3)	29326	6	白细胞介素8(IL-8)	17074
2	肿瘤坏死因子(TNF)	22614	7	趋化因子(CCL2)	15984
3	白细胞介素6(IL-6)	21602	8	白细胞介素4(IL-4)	15846
4	白细胞介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )	21122	9	白细胞介素10(IL-10)	12266
5	原癌基因(JUN)	18686	10	肿瘤抑制基因P53(TP53)	10922

表2 核心活性成分

分子编码	分子中文名称	分子英文名称	分子化学式	归属药物
MOL000098	槲皮素	Quercetin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>	杜仲、枸杞子、甘草
MOL000422	山柰酚	Kaempferol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	杜仲、人参、甘草
MOL000392	芒柄花素	Formononetin	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	甘草
MOL003735	桃叶珊瑚苷	Aucubin	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>9</sub>	熟地黄
MOL000497	甘草查耳酮a	Licochalcone a	C <sub>21</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	甘草
MOL000322	卡舒勒酮	Kadsurenone	C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>	山药
MOL000635	香兰素	Vanillin	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	当归

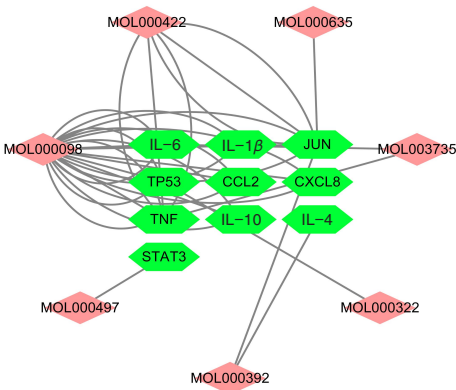


图3 “核心活性成分——核心作用靶点”网络图

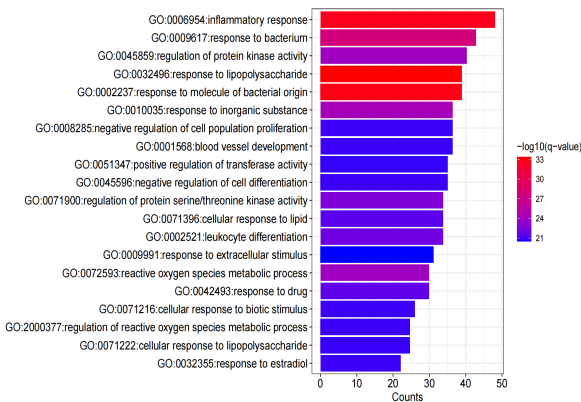


图4 GO富集分析——生物过程条形图

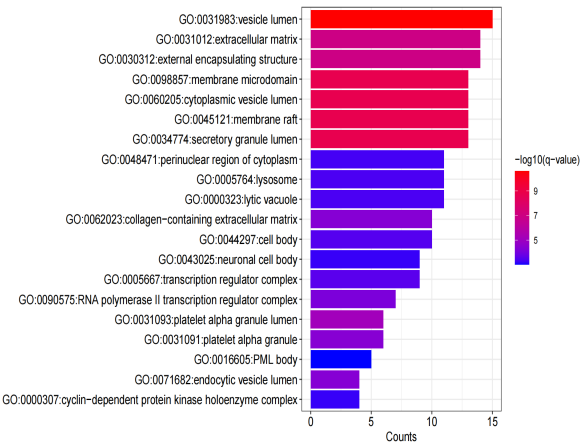


图5 GO富集分析——细胞组分条形图

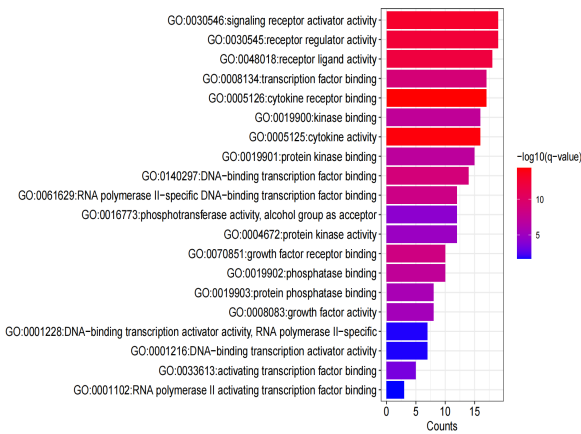


图6 GO富集分析——分子功能条形图





### 3 讨论

大补元煎为“脾肾双补”经方。全方温补元气,元气既旺,阴血自生,脾肾兼顾。方中人参大补元气,益气摄血;熟地黄、枸杞子补肝肾阴,益肾精,精髓充足,清窍得养;杜仲于阴中求阳,阴生阳复;当归与熟地黄同用,更增强滋肾养血之功效,使气复血充。全方合而补肾益髓,大补元气,益气养血。人参与熟地黄相配,善治精气耗损之证。《脾胃论·脾胃胜衰论》指出:“大抵脾胃虚弱,脾病则下流乘肾,土克水,则骨乏无力,是为骨蚀,令人骨髓空虚,足不能履地。”说明脾虚气亏,其所胜者水火之宅亦受其累,肾虚精亏,骨髓空亏。脾肾亏虚,气血不足从而影响骨折愈合。

骨折愈合是在细胞因子、生长因子和转录因子影响下的一种修复过程<sup>[9]</sup>。GERIS等<sup>[10]</sup>通过研究发现骨折愈合的过程与间充质干细胞、成骨细胞、内皮细胞、软骨基质、骨基质、血管基质、成骨生长因子、血管生长因子等有密切的关系。在骨折重塑过程中,破骨细胞骨吸收和成骨细胞骨形成维持了骨内稳态<sup>[11]</sup>。而骨形成主要取决于成骨细胞数量和活性,骨吸收则主要取决于破骨细胞数量和活性<sup>[12]</sup>。脊柱压缩骨折后,由于炎症反应等病理变化,诱导促进破骨细胞的分化和功能,并直接刺激骨吸收,破坏了这种稳态平衡<sup>[13-15]</sup>。因此调控成骨细胞和破骨细胞的稳态平衡是骨折愈合过程中的关键。

大补元煎方中核心活性成分槲皮素是一种天然黄酮类化合物。研究发现槲皮素可作用于AMPK/SIRT1通路调节骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMs)的成骨-成脂分化,还可能通过p38 MAPK通路<sup>[16-17]</sup>诱导自噬、抗凋亡和抑制氧化应激等<sup>[18]</sup>。卞伟等<sup>[19]</sup>研究发现,槲皮素能促进骨髓间充质干细胞的增殖和骨向分化。山柰酚也是一种黄酮类化合物,可以促进BMMs的成骨分化<sup>[20-21]</sup>,抑制成脂分化<sup>[22]</sup>,调节NF- $\kappa$ B和p38 MAPK通路,降低IL- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等水平,发挥抗炎作用<sup>[23]</sup>。崔琳娜等<sup>[24]</sup>研究发现山柰酚可以提高牵张力下BMMs成骨活性。芒柄花素是一种异黄酮,其与CAT、MMP9、TNF、IL-6等核心靶点有较好的结合潜力,可刺激BMMs向成骨细胞分化,促进骨再生<sup>[25-27]</sup>。研究发现芒柄花素是通过激活p38 MAPK通路刺激成骨细胞分化<sup>[28]</sup>。洪一波等<sup>[13]</sup>研究发现,芒柄花素能够抑制RANKL诱导的破骨细胞增殖和破骨细胞骨吸收相关的功能基因CTSK、TRAP、MMP9、Car2的表达,发挥调控成骨细胞和破骨细胞活性。桃叶珊瑚苷是一种在

杜仲和熟地黄等多种植物中发现的环烯醚萜苷。牟丽秋等<sup>[29]</sup>研究发现桃叶珊瑚苷可促进成骨细胞的增殖和分化。另有研究发现桃叶珊瑚苷不仅能促进成骨细胞的分化,如碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)浓度的增加和细胞矿化,而且还能增加多种细胞因子的表达,包括骨钙素、骨桥蛋白和骨基质<sup>[30]</sup>。甘草查耳酮A(Licochalcone A)是一种从甘草根中提取的黄酮类化合物,具有广泛的抗炎、抗菌和抗氧化生物活性<sup>[31-32]</sup>。KIM等<sup>[33]</sup>研究发现甘草查耳酮A具有双重活性,其通过阻止NF- $\kappa$ B信号通路的激活而抑制破骨细胞的形成,也能通过调节骨吸收相关基因的表达来抑制成熟破骨细胞的骨再吸收活性。研究发现甘草查耳酮A可以在体内和体外增强BMMs的成骨分化,通过激活骨内膜骨形成和部分抑制骨吸收来恢复或保护疾病状态下的骨量,从而恢复受损BMMs分化的生物学功能<sup>[34]</sup>。卡舒勒酮是一种新木脂素,是天然的血小板活化因子(platelet-activating factor, PAF)抑制剂<sup>[35]</sup>。PAF在血小板聚集、中性粒细胞和巨噬细胞的刺激、炎症反应中起重要作用<sup>[36-37]</sup>。研究发现PAF可直接增强破骨细胞的运动和吸收活性<sup>[38-39]</sup>。另有临床研究发现较高的血浆PAF水平与绝经后妇女椎体骨折风险增加和骨密度降低有关<sup>[40]</sup>。因此,抑制PAF可以抑制破骨细胞的生成。香兰素是从大型兰科植物香荚兰的种子中提取出来的醛类物质。研究发现香兰素对RANKL诱导的多核破骨细胞形成和骨吸收具有抑制作用,抑制骨吸收并促进早期细胞凋亡率<sup>[41]</sup>。

骨折后,炎症细胞浸润,血小板及巨噬细胞释放的转化生长因子 $\beta$ (macrophage-derived transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )刺激成骨细胞增殖分化,促进骨折断端膜内成骨及骨痂形成<sup>[42]</sup>,促进BMMs的成骨分化作用,加速新骨形成<sup>[43]</sup>;江燕<sup>[44]</sup>等研究发现IL-6等对于胸腰椎骨折愈合起重要作用,结合其他研究发现,其通过招募其他非炎症细胞,增强细胞外基质吸收和血管生成,同时又促进干细胞的活化、增殖和分化,这对促进骨折愈合起重要作用<sup>[45]</sup>。并且TGF- $\beta$ 、IL-6<sup>[46]</sup>和MAPK1、MAPK3等因子共同刺激并激活MAPK通路,而MAPK信号通路主要在于对骨细胞分化的调节作用<sup>[47-48]</sup>,被激活后MAPK信号通路则诱导BMMs向成骨细胞分化<sup>[49]</sup>。HIF-1信号通路由 $\alpha$ 、 $\beta$ 两个亚基构成,HIF-1 $\alpha$ 可通过作用于靶基因如PTEN上调多种细胞因子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、TGF- $\beta$ 及细

胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶(cysteiny aspartate specific proteinase 3,CASP3)等的表达来促进骨折局部血管等的形成,同时还可以直接调控骨系细胞的募集、迁移、增殖、分化等<sup>[50]</sup>。VEGFA是血管内皮生长因子VEGF家族中的一种。多项研究表明<sup>[51-52]</sup>VEGF可调控PI3K/Akt信号通路的激活,其表达产物可促进新血管形成、增加血管通透性并维持血管正常状态和完整性<sup>[53]</sup>,VEGF还可以通过增强成骨细胞中的碱性磷酸酶活性<sup>[54]</sup>,从而促进成骨细胞的增殖与分化。在上皮细胞中,VEGF的信号传导都通过下游的丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine protein kinase,RAF1),RAF1可被看作是几种生长因子诱导血管生成的信号枢纽<sup>[55]</sup>。同时CASP3的表达可以增强碱性磷酸酶活性,诱导成骨相关基因的表达<sup>[56]</sup>。在细胞凋亡时,CASP3主要通过经典骨代谢稳态调节信号通路<sup>[57-58]</sup>PI3K/AKT的介导作用,下调改善成骨细胞分化水平,使成骨细胞的凋亡降低<sup>[59]</sup>。表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)是EGFR信号通路的重要配体,EGFR信号通路是机体调节骨代谢的另一条重要途径<sup>[60]</sup>,被激活后的EGFR通路在细胞增殖分化中发挥重要作用<sup>[61]</sup>。同时研究者发现EGFR信号通路与骨膜内的干细胞(stem cells,SCs)关系密切<sup>[62]</sup>。王华松等<sup>[63]</sup>仁研究发现,骨折愈合早期,抑制EGFR信号通路能抑制骨内、外膜来源SCs的增殖,促进其成骨、成软骨的分化。袁功武等<sup>[64]</sup>发现抑制EGFR信号通路后促进软骨骨痂形成及向硬骨骨痂转变。且大补元煎方中的核心活性成分甘草查耳酮a也可通过抑制EGFR下游激酶ERK1/2和AKT在翻译上抑制了存活蛋白<sup>[65]</sup>,以上均说明抑制EGFR信号通路可以调节成骨细胞的分化。信号转导与STAT3途径参与多种细胞的增殖、分化等过程,调控成骨、破骨细胞功能和骨组织再生,并可促进创伤局部血管生成<sup>[66]</sup>。研究发现RANKL与STAT3信号通路关系密切<sup>[67]</sup>,同时大补元煎方中的核心活性成分芒柄花素能够抑制RANKL诱导的破骨细胞增殖,调控成骨细胞和破骨细胞活性<sup>[13]</sup>。因此,大补元煎通过多分子、多靶点、多通路共同发挥促进骨折愈合的作用。

本研究的不足之处在于甘草的有效活性成分过多,对于整体基因靶点及通路的筛选存在一定的偏差影响,后期我们将通过更深层次的基础研究实验来进一步验证。

综上所述,大补元煎方的核心活性成分槲皮素、山柰酚、芒柄花素、桃叶珊瑚苷、甘草查耳酮

A、卡舒勒酮、香兰素等主要通过调控细胞因子、生长因子和转录因子,如IL-6、TGF- $\beta$ 、MAPK1、MAPK3、EGF、VEGFA、CASP3、STAT3因子等,激活MAPK、PI3K-AKT、HIF-1等信号通路,抑制炎症反应、调节细胞的生成与凋亡,促进新血管生成及抑制破骨细胞的生成,促进成骨细胞的分化,调整破骨细胞与成骨细胞之间代谢稳态平衡来促进骨折愈合。

#### 参考文献

- [1] 石浩,王德成,王忠伟,等. 中西医结合“三步复位法”治疗胸腰段脊柱爆裂骨折复位方法的临床研究[J]. 世界中西医结合杂志,2016,11(11):1560-1563.
- [2] 范小春,范艺缤,王帅,等. “调脏舒秘方”治疗脊柱骨折早期便秘的临床疗效观察[J]. 颈腰痛杂志,2020,41(3):383-384.
- [3] 邓宇,刘奎,陈廖斌. 补肾壮骨汤联合经皮椎体后凸成形术治疗老年骨质疏松性胸腰椎压缩性骨折[J]. 中医学报,2017,32(10):1890-1894.
- [4] 笪巍伟,赵永见,兰儒贤,等. 健脾补肾方增加 $\beta$ -catenin、Runx2表达而促进骨质疏松性骨折愈合的疗效观察[J]. 中国骨质疏松杂志,2017,3(6):719-726.
- [5] REN J,WEI J. The application of molecular docking technology in the study of traditional Chinese medicine[J]. Chin J InfTradit Chin Med,2014,21(1):123-125.
- [6] DAINA A,MICHIELIN O,ZOETE V. SwissADME:a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. Sci Rep,2017,7:42717.
- [7] 赵子龙,石慧,杨夏. 蒙药三子汤治疗类风湿关节炎的药效学及网络药理学研究[J]. 西部中医药,2024,37(9):1-6.
- [8] 胡伟,陶皎阳,莫泽君,等. 基于网络药理学和分子对接探讨威麦宁治疗肺腺癌的机制研究[J]. 中国药理学通报,2021,37(3):430-436.
- [9] RAUSCH V,SEYBOLD D,KÖNIGSHAUSEN M,et al. Basic principles of fracture healing[J]. Orthopade,2017,46(8):640-647.
- [10] GERIS L,GERISCH A,VANDER SLOTEN J,et al. Angiogenesis in bone fracture healing: a bioregulatory model[J]. J Theor Biol,2008,251(1):137-158.
- [11] PARFITT A M. Bone remodeling and bone loss: understanding the pathophysiology of osteoporosis[J]. Clin Obstet Gynecol,1987,30(4):789-811.
- [12] 张玲莉,陈炳霖,邹军. 运动影响骨转换:促进或抑制骨细胞/破骨细胞的发育和活性[J]. 中国组织工程研究,2014,18(42):6838-6843.
- [13] 洪一波,姜宏,王建伟,等. 芒柄花素抑制RANKL诱导破骨细胞分化的实验研究[J]. 中国骨伤,2020,33(1):64-70.
- [14] SANJAY S,GIRISH C,TOI P C,et al. Quercetin modulates NRF2 and NF- $\kappa$ B/TLR-4 pathways to protect against isoniazid-and rifampicin-induced hepatotoxicity in vivo[J]. Can J Physiol Pharmacol,2021,99(9):952-963.
- [15] ZHANG W,JIA L,ZHAO B,et al. Quercetin reverses



- TNF- $\alpha$  induced osteogenic damage to human periodontal ligament stem cells by suppressing the NF- $\kappa$ B/NLRP3 inflammasome pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(4):39.
- [16] SUGAWARA T, SAKAMOTO K. Quercetin enhances motility in aged and heat-stressed *Caenorhabditis elegans* nematodes by modulating both HSF-1 activity, and insulin-like and p38-MAPK signalling[J]. *PLoS One*, 2020, 15(9):e0238528.
- [17] FIRGANY A E D L, SARHAN N R. Quercetin mitigates monosodium glutamate-induced excitotoxicity of the spinal cord motoneurons in aged rats via p38 MAPK inhibition[J]. *Acta Histochem*, 2020, 122(5):151554.
- [18] ZEINVAND LORESTANI M, KARIMI S, KHORSANDI L. Quercetin ameliorates cytotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on Sertoli cells by enhancing autophagy and suppressing oxidative stress[J]. *Andrologia*, 2021, 53(3):e13988.
- [19] 卞伟, 孙宏, 刘凯, 等. 槲皮素对骨质疏松大鼠骨生物力学性能及骨代谢的影响[J]. *吉林中医药*, 2016, 36(8):814-817.
- [20] LIU H, YI X, TU S, et al. Kaempferol promotes BMSC osteogenic differentiation and improves osteoporosis by downregulating miR-10a-3p and upregulating CXCL12[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2021, 520:111074.
- [21] SHARMA A R, NAM J S. Kaempferol stimulates WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway to induce differentiation of osteoblasts[J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 74:108228.
- [22] TORRES VILLARREAL D, CAMACHO A, CASTRO H, et al. Anti-obesity effects of kaempferol by inhibiting adipogenesis and increasing lipolysis in 3T3-L1 cells[J]. *J Physiol Biochem*, 2019, 75(1):83-88.
- [23] PARK S E, SAPKOTA K, KIM S, et al. Kaempferol acts through mitogen-activated protein kinases and protein kinase B/AKT to elicit protection in a model of neuroinflammation in BV2 microglial cells[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 164(3):1008-1025.
- [24] 崔琳娜, 蒋校文, 黄华庆, 等. 山柰酚通过mTORC1信号促进牵张力下小鼠骨髓间充质细胞成骨分化机制研究[J]. *口腔疾病防治*, 2021, 29(4):234-240.
- [25] GAUTAM J, KHEDGIKAR V, KUSHWAHA P, et al. Formononetin, an isoflavone, activates AMP-activated protein kinase/ $\beta$ -catenin signalling to inhibit adipogenesis and rescues C57BL/6 mice from high-fat diet-induced obesity and bone loss[J]. *Br J Nutr*, 2017, 117(5):645-661.
- [26] MANSOORI M N, TYAGI A M, SHUKLA P, et al. Methoxyisoflavones formononetin and isoformononetin inhibit the differentiation of Th17 cells and B-cell lymphopoiesis to promote osteogenesis in estrogen-deficient bone loss conditions[J]. *Menopause*, 2016, 23(5):565-576.
- [27] 蓝绍航, 庞宇舟, 区佩琪, 等. 基于网络药理学和分子对接技术研究甘草附子汤治疗类风湿性关节炎的作用机制[J]. *西部中医药*, 2023, 36(10):7-14.
- [28] GAUTAM A K, BHARGAVAN B, TYAGI A M, et al. Differential effects of formononetin and cladrin on osteoblast function, peak bone mass achievement and bio-availability in rats[J]. *J Nutr Biochem*, 2011, 22(4):318-327.
- [29] 牟丽秋, 杜俊, 胡旖耘, 等. 杜仲中槲皮素、京尼平苷及桃叶珊瑚苷对小鼠成骨样细胞系MC3T3-E1增殖和分化的影响[J]. *药物评价研究*, 2015, 38(2):165-169.
- [30] LI Y, ZHANG Y, ZHANG X, et al. Aucubin exerts anti-osteoporotic effects by promoting osteoblast differentiation[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(3):2226-2245.
- [31] ZHU Z, XIE Q, HUANG Y, et al. Aucubin suppresses titanium particles-mediated apoptosis of MC3T3-E1 cells and facilitates osteogenesis by affecting the BMP2/Smads/RunX2 signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3):2561-2570.
- [32] SHEN T S, HSU Y K, HUANG Y F, et al. Licochalcone A suppresses the proliferation of osteosarcoma cells through autophagy and ATM-Chk2 activation[J]. *Molecules*, 2019, 24(13):2435.
- [33] KIM S N, KIM M H, MIN Y K, et al. Licochalcone A inhibits the formation and bone resorptive activity of osteoclasts[J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32(9):1064-1072.
- [34] MING L, JIN F, HUANG P, et al. Licochalcone A up-regulates of fasL in mesenchymal stem cells to strengthen bone formation and increase bone mass[J]. *Sci Rep*, 2014, 4:7209.
- [35] ZHANG N, LI R, YU H, et al. Development of an LC-MS/MS method for quantification of kadsurenone in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study[J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(12):1754-1758.
- [36] PAŁGAN K, BARTUZI Z. Platelet activating factor in allergies[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2015, 28(4):584-589.
- [37] LIU Y, SHIELDS L B E, GAO Z, et al. Current understanding of platelet-activating factor signaling in central nervous system diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(7):5563-5572.
- [38] ZHENG Z G, WOOD D A, SIMS S M, et al. Platelet-activating factor stimulates resorption by rabbit osteoclasts in vitro[J]. *Am J Physiol*, 1993, 264(1 Pt 1):E74-E81.
- [39] WOOD D A, HAPAK L K, SIMS S M, et al. Direct effects of platelet-activating factor on isolated rat osteoclasts. Rapid elevation of intracellular free calcium and transient retraction of pseudopods[J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(23):15369-15376.
- [40] KIM H, KIM B J, AHN S H, et al. Higher plasma platelet-activating factor levels are associated with increased risk of vertebral fracture and lower bone mineral density in postmenopausal women[J].

- J Bone Miner Metab, 2015, 33(6): 701-707.
- [41] CHEN Y, DOU C, YI J, et al. Inhibitory effect of vanillin on RANKL induced osteoclast formation and function through activating mitochondrial-dependent apoptosis signaling pathway[J]. Life Sci, 2018, 208: 305-314.
- [42] WEN X, LI X, TANG Y, et al. Chondrocyte FGFR3 regulates bone mass by inhibiting osteogenesis[J]. J Biol Chem, 2016, 291(48): 24912-24921.
- [43] GARG P, MAZUR M M, BUCK A C, et al. Prospective review of mesenchymal stem cells differentiation into osteoblasts[J]. Orthop Surg, 2017, 9(1): 13-19.
- [44] 江燕, 蒋翔宁, 汪颖峰. 血清 IL-6、铁蛋白、25(OH)D3 水平变化与骨质疏松性胸腰椎骨折患者保守治疗后骨折未愈合的关系[J]. 颈腰痛杂志, 2024, 45(5): 825-830.
- [45] DAI Y, LI X, WU R, et al. Macrophages of different phenotypes influence the migration of BMSCs in PLGA scaffolds with different pore size[J]. Biotechnol J, 2018, 13(1): 167-172.
- [46] YUE J, LÓPEZ J M. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(7): 2346.
- [47] 熊巍, 王贵梅, 湛婕. 消增强骨丸对肝肾阴虚型骨质疏松症患者骨转换标志物的影响[J]. 西部中医药, 2024, 37(4): 116-119.
- [48] ADAM C, GLÜCK L, EBERT R, et al. The MEK5/ERK5 mitogen-activated protein kinase cascade is an effector pathway of bone-sustaining bisphosphonates that regulates osteogenic differentiation and mineralization[J]. Bone, 2018, 111: 49-58.
- [49] 张玲莉, 雷乐, 吴伟. MAPK 信号通路在骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化中的作用[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2021, 14(1): 75-81.
- [50] 乔军杰, 周萌, 黄江, 等. 低氧诱导因子-1 $\alpha$ 促进骨折愈合机制的研究进展[J]. 北京医学, 2018, 4(2): 141-143.
- [51] ZHU G S, TANG L Y, LV D L, et al. Total flavones of Abelmoschus manihot exhibits pro-angiogenic activity by activating the VEGF-A/VEGFR2-PI3K/akt signaling axis[J]. Am J Chin Med, 2018, 46(3): 567-583.
- [52] LIU Y, LIU J, XIA T, et al. MiR-21 promotes fracture healing by activating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(7): 2727-2733.
- [53] HANKENSON K D, GAGNE K, SHAUGHNESSY M. Extracellular signaling molecules to promote fracture healing and bone regeneration[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 94: 3-12.
- [54] 谢兴文, 李建国, 黄晋, 等. 血管内皮生长因子防治骨质疏松的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25(7): 1030-1033.
- [55] HOOD J D, BEDNARSKI M, FRAUSTO R, et al. Tumor regression by targeted gene delivery to the neovasculature[J]. Science, 2002, 296(5577): 2404-2407.
- [56] 游利. MiR-378 对高糖作用下成骨细胞分化的调控作用及机制探讨[D]. 上海: 上海交通大学, 2015.
- [57] REDDY D, KUMAVATH R, TAN T Z, et al. Peruvoside targets apoptosis and autophagy through MAPK Wnt/ $\beta$ -catenin and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways in human cancers[J]. Life Sci, 2020, 241: 117147.
- [58] 陈亚辉, 龚忠勤, 崔燎. PI3K/Akt 信号通路在骨质疏松病理过程中的作用[J]. 中国骨质疏松杂志, 2015, 21(3): 356-360.
- [59] 刘嘉眉, 李颖. 成骨细胞中 Caspase 蛋白和 Bcl-2 蛋白在绝经后骨质疏松症发病机理中的作用[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2015, 9(6): 780-783.
- [60] SCHNEIDER M R, WOLF E. The epidermal growth factor receptor ligands at a glance[J]. J Cell Physiol, 2009, 218(3): 460-466.
- [61] LIMAYE P B, BOWEN W C, ORR A V, et al. Mechanisms of hepatocyte growth factor-mediated and epidermal growth factor-mediated signaling in transdifferentiation of rat hepatocytes to biliary epithelium[J]. Hepatology, 2008, 47(5): 1702-1713.
- [62] 兰生辉, 曾文波, 陈美玲, 等. Gefitinib 抑制表皮生长因子受体信号通路对大鼠骨内膜来源干细胞增殖及成骨分化的影响[J]. 中华创伤骨科杂志, 2018, 20(12): 1072-1078.
- [63] 王华松, 兰生辉, 庞炯宇, 等. 抑制 EGFR 信号通路对骨折愈合早期骨内、外膜来源干细胞增殖、分化能力影响的研究[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2020, 17(6): 5-8.
- [64] 袁功武, 兰生辉, 刘曦明. 抑制表皮生长因子受体信号通路对大鼠股骨骨折愈合的作用[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(4): 731-733.
- [65] GAO F, LI M, YU X, et al. Licochalcone A inhibits EGFR signalling and translationally suppresses survivin expression in human cancer cells[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(2): 813-826.
- [66] KAMRAN M Z, PATIL P, GUDE R P. Role of STAT3 in cancer metastasis and translational advances[J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 421821.
- [67] 刘起昆, 鲍兴, 李浩, 等. 地诺单抗通过 STAT3 信号通路抑制骨巨细胞瘤的初步研究[J]. 骨科, 2019, 10(4): 284-292.

收稿日期: 2024-09-08

基金项目: 国家自然科学基金(81973676); 重庆市永川区科学技术局自然科学基金(2021yc-jckx20016)。

作者简介: 程胜强(1990—), 男, 硕士学位, 主治医师。研究方向: 脊柱外科疾病及神经病理性疼痛的临床诊治。

△通讯作者: 彭志财(1970—), 男, 博士研究生导师, 主任医师, 重庆市中医药学会骨伤专业委员会主任委员。研究方向: 脊柱疾病及创伤外科疾病的临床诊治。Email: pzc13883192833@163.com。