

DOI:10.12174/j.issn.2096-9600.2025.06.15

基于网络药理学和分子对接技术 探究滋阴清骨丸治疗脊柱结核的作用机制*

殷润良¹, 蒯慧荣², 李喜香^{2△}, 张志瑞², 李翔², 王雪梅², 王建良¹, 苏秦¹

1 甘肃中医药大学, 甘肃兰州 730030; 2 甘肃省中医院, 甘肃兰州 730050

[摘要] 目的:基于网络药理学和分子对接技术探究滋阴清骨丸治疗脊柱结核的作用机制。方法:运用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)以及SwissTargetPrediction数据库筛选滋阴清骨丸活性成分及其对应靶点;通过人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)、DrugBank数据库收集脊柱结核相关靶点,运用UniPort数据平台整理和规范靶点的基因名称,利用Venny网站获取滋阴清骨丸活性成分与脊柱结核交集靶点;采用Cytoscape 3.9.1软件构建“药物-成分-疾病-靶点”网络,通过STRING数据库构建蛋白-蛋白互作(protein-protein interactions, PPI)网络,运用R语言进行基因本体论(gene ontology, GO)及京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析;选取关键靶点及核心活性成分,使用PyMOL、AutoDock软件进行分子对接。结果:筛选得到滋阴清骨丸活性成分215个,共573个对应靶基因,脊柱结核疾病相关靶点1504个,滋阴清骨丸活性成分与脊柱结核交集靶点154个;PPI网络排名前10的交集靶点为SRC、HSP90AA1、PIK3R1、MAPK1、PIK3CA、RELA、AKT1、JUN、VEGFA、EGFR;GO富集分析得到生物学过程2545条,细胞组分82条,分子功能193条;KEGG富集分析获得163条相关通路,主要包括PI3K/AKT、松弛素、CTLR信号通路等;分子对接结果显示关键靶点与重要活性成分结合构象稳定,滋阴清骨丸治疗脊柱结核的核心活性成分主要有木犀草素、豆甾醇、 β -谷甾醇、山柰酚等。结论:滋阴清骨丸可能作用于SRC、HSP90AA1、PIK3R1等靶点,通过调控PI3K/AKT、松弛素、CTLR等相关信号通路发挥抗脊柱结核作用。

[关键词] 脊柱结核;滋阴清骨丸;网络药理学;分子对接;作用机制

[中图分类号] R274.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2025)06-0078-08

Exploring the Mechanism of Nourishing-Yin Clearing-Bone Pills in Treating Spinal Tuberculosis Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

YIN Runliang¹, XI Huirong², LI Xixiang^{2△}, ZHANG Zhirui², LI Xiang², WANG Xuemei², WANG Jianliang¹, SU Qin¹

1 Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China;

2 Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China

Abstract Objective: To explore the mechanism of nourishing-Yin clearing-bone pills in treating spinal tuberculosis based on network pharmacology and molecular docking technology. Methods: TCMSP and Swiss Target Prediction databases were used to screen the active ingredients and corresponding targets of the pills; GeneCards, OMIM, and DrugBank databases were used to collect the targets related to spinal tuberculosis. The Uniport data platform was used to organize and standardize the gene names of the targets; the intersection targets of the active ingredient of the pills and spinal tuberculosis were obtained using the Venny website; "medicine-component-disease-target" network was constructed using Cytoscape 3.9.1 software, and the protein-protein interactions (PPI) network was built by STRING database. The Gene Ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were carried out using R language; key targets and core active ingredients were chosen, PyMOL and AutoDock software were conducted for molecular docking. Results: There are 215 active ingredients obtained in the medicine, and 573 corresponding target genes in total, 1504 targets related to spinal tuberculosis, and 154 intersecting targets between the active ingredients of the pills and targets related to spinal tuberculosis; the top ten intersecting targets were identified through PPI network, including SRC, HSP90AA1, PIK3R1, MAPK1, PIK3CA, RELA, AKT1, JUN, VEGFA and EGFR; GO enrichment analysis revealed 2 545 biological processes, 82 cellular components and 193 molecular function; KEGG pathway enrichment analysis obtained 163 related pathways, mainly covering PI3K/AKT, relaxin, CTLR signaling pathway; the results of molecular docking showed that key targets and important active ingredients had stable binding conformation, and the core active ingredients of the medicine in the treatment of spinal tuberculosis were

mainly luteolin, stigmaterol, β -Sitosterol, kaempferol, etc. Conclusion: Nourishing-Yin clearing-bone pills could treat spinal tuberculosis possibly by acting on the targets including SRC, HSP90AA1 and PIK3R1, and regulating PI3K/AKT, relaxin, CTRLR and other signaling pathways.

Keywords spinal tuberculosis; nourishing-Yin clearing-bone pills; network pharmacology; molecular docking; mechanism

脊柱结核是由结核分枝杆菌引起的肺外结核和骨关节结核疾病^[1-2]。据统计,脊柱结核占有骨结核的75%左右,为常见的一种全身性骨关节结核,脊柱结核患者因出现脊柱弯曲、背部畸形而导致不可逆的神经系统疾病伤害,甚至发展为截瘫^[3-4]。目前,脊柱结核的治疗以药物治疗为主,坚持“早期、联用、适量、规律、全程”治疗原则^[5]。

脊柱结核属中医学“骨痹”“流痰”等范畴。治法以温肾壮阳、益气健脾、滋阴养血、扶正祛邪、抗痨杀虫为主^[6]。滋阴清骨丸由甘肃省中医院邓强团队经过多年临床实践经验研发而来,用于治疗骨关节结核、慢性骨感染,流注、阴疽肿毒等属阴虚内热证者。本研究基于网络药理学和分子对接技术探究滋阴清骨丸治疗脊柱结核的作用机制。

1 研究方法

1.1 滋阴清骨丸有效活性成分及靶点筛选 通过中药系统药理学数据库与分析平台(traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, TC-MSP)(<https://tcmospw.com/tcmosp.php>)检索滋阴清骨丸中14味中药的所有活性成分,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(drug likeness, DL) ≥ 0.18 为标准筛选有效活性成分及对应靶点,并通过查阅文献补充滋阴清骨丸治疗脊柱结核的有效活性成分。使用UniProt(<https://uniprot.org/>)数据库规范活性成分靶点基因名称,使靶点信息标准化。

1.2 脊柱结核疾病相关靶点筛选 以“spinal tuberculosis”为关键词,在人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)、在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)、DrugBank数据库中进行检索,运用UniPort数据平台整理和规范靶点基因名,将各数据库得到的疾病相关基因进行并集并删除重复基因,获得脊柱结核疾病相关靶点。

1.3 药物-疾病交集靶点获取 运用Venny网站对筛选得到的滋阴清骨丸及脊柱结核靶点取交集,获得滋阴清骨丸治疗脊柱结核的潜在靶点。

1.4 蛋白-蛋白互作(protein-protein interactions, PPI)网络构建 将滋阴清骨丸的主要活

性成分与潜在靶点导入Cytoscape 3.9.1软件,绘制“中药-活性成分-潜在靶点”网络。将滋阴清骨丸治疗脊柱结核的潜在靶点导入STRING数据库,物种设置为“Homo sapiens”,最低相互作用阈值设为最高置信度“highest confidence(0.9)”,进行PPI网络分析,运用Cytoscape 3.9.1软件将PPI网络进行可视化处理。使用插件CytoNCA提取网络中得分较高的节点,以介数和自由度的中位数作为截点,将截点之上的靶点视为关键靶点。

1.5 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)富集分析 通过“ClusterProfiler”等R包对核心靶点进行GO和KEGG富集分析,借助R语言对富集结果进行可视化分析。从生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)、细胞组分(cellular component, CC)3方面分析滋阴清骨丸治疗脊柱结核的机制。

1.6 分子对接 从TCMSP网站中下载滋阴清骨丸主要成分的化学结构式,保存为*mol2格式,使用AutoDockTools-1.5.6软件转换为*pdbqt格式。在PDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载对接靶点蛋白结构。将下载的蛋白使用Pymol软件去水,提取配体,去除配体外的小分子,确定对接盒子大小。将处理后的蛋白使用AutoDockTools-1.5.6加氢加电荷,保存为*pdqt格式。使用AutoDockTools-1.5.6进行小分子与蛋白对接,通过Pymol取结合能最小的成分构象。

2 结果

2.1 滋阴清骨丸活性成分及潜在靶点 通过TCMSP共筛选出滋阴清骨丸中中药关键成分232种,不计重复项共193种,通过查阅文献补充“滋阴清骨丸”治疗脊柱结核的中药活性成分5种^[7-9],在化学专业数据库中得到动物药关键活性成分17种,共得到215种成分,整合筛选靶点573个。

2.2 脊柱结核疾病相关靶点 在GeneCards数据库共筛选出1962个相关靶点,根据数据库对疾病基因靶点得分排序,最高得分为51.672,最低得分为0.233,得分 ≥ 2.103 (中位数)作为疾病潜在靶点。在OMIM、DrugBank中得到其他部分预测

基因,将 OMIM、DrugBank、GeneCards 数据库中的基因进行整合,共得到1504个疾病靶点。

2.3 滋阴清骨丸治疗脊柱结核的“药物-成分”靶点网络与主要成分 运用 Venny (bioinfo.gp.cnb.csic.es)数据库对滋阴清骨丸和脊柱结核的靶点取交集,得到“成分-靶点”交集基因154个(图1)。运用 Cytoscape_v3.9.1 及其插件构建滋阴清骨丸治疗脊柱结核“药物-成分”靶点网络图(图2)。该网络包含353个节点,1233条连线,节点中包含15味中药,184个活性成分和154个作用靶点。

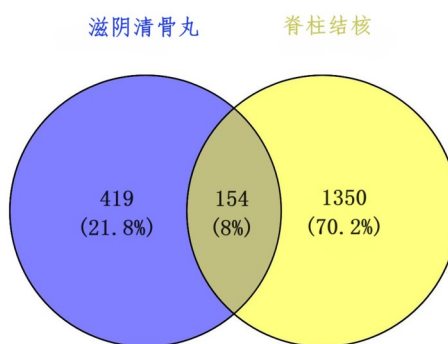


图1 滋阴清骨丸活性成分与脊柱结核交集靶点(韦恩图)

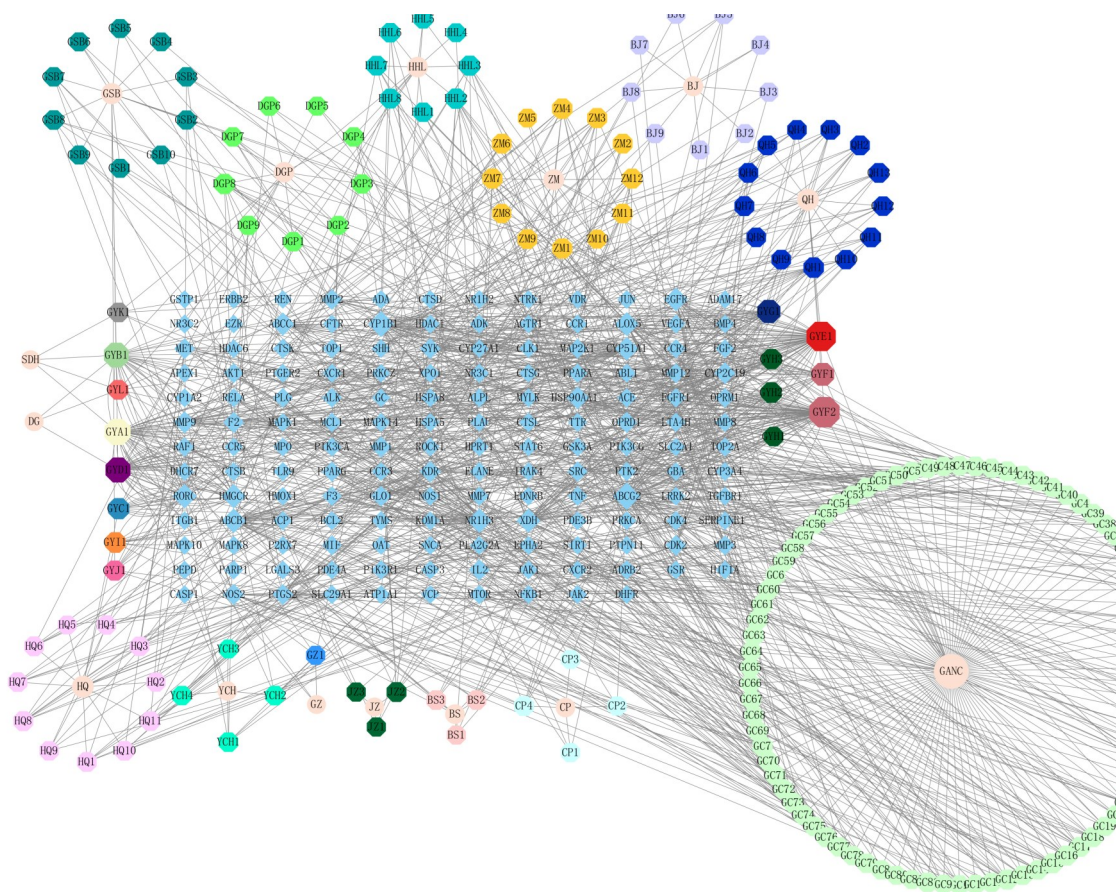


图2 滋阴清骨丸治疗脊柱结核“成分-靶点”网络

滋阴清骨丸治疗脊柱结核的化学成分共184种,不同中药之间的共有成分共15种。Degree值越大,其为滋阴清骨丸治疗脊柱结核的关键化学成分的可能性越大。因此选择Degree值排行前8位的化学成分槲皮素、山柰酚、谷甾醇、β-谷甾醇、豆甾醇、木犀草素、异鼠李素、常春藤皂苷元进行后续研究。

2.4 PPI网络 删除边缘蛋白后,PPI网络共涉及125个节点,962条边,取度值排行前10的靶点进行后续研究,见表1、图3。

2.5 GO分析 共得到2820条GO条目,涉及BP共2545条,CC共82条,MF共193条,以P值大小进行

升序排列,分别选取BP、CC、MF前10条GO条目,结果表明,靶点基因BP主要集中在细胞对化学应激反应、对外界刺激反应的正向调节、激酶活性正向调节、对细菌来源分子的反应等方面。CC方面,主要作用在膜筏、膜微域、囊泡腔、质膜外侧等方面。在MF方面,对蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶活性、内肽酶活性、蛋白丝氨酸激酶活性、磷酸酶结合等有显著影响。见图4。

2.6 KEGG富集分析 KEGG共富集了163条相关靶点通路,靶点基因主要涉及PI3K/AKT、松弛素、CTRL等信号通路,见图5。

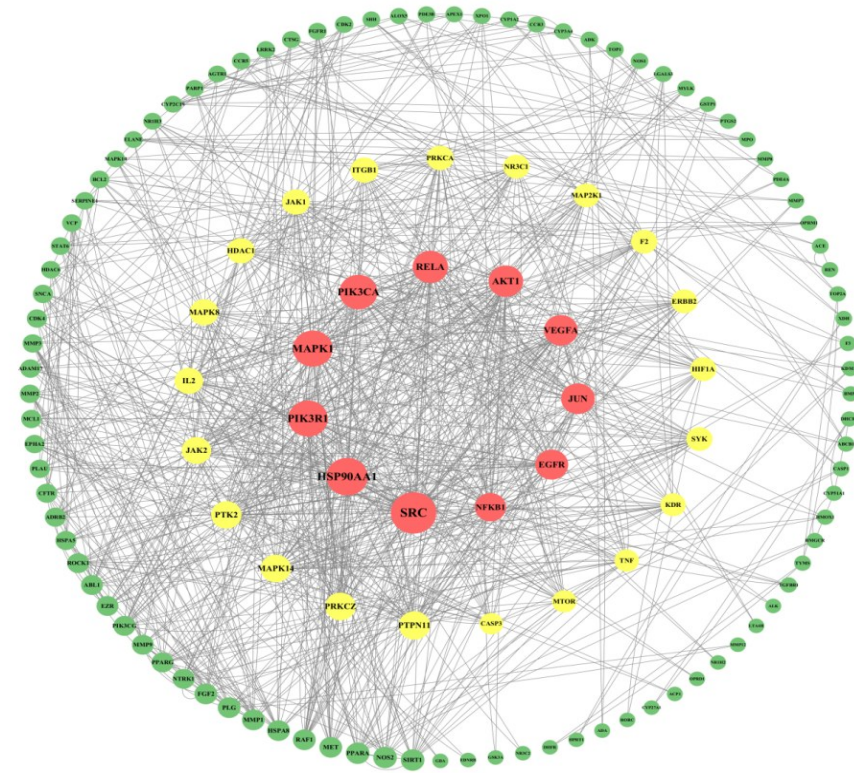


图3 滋阴清骨丸潜在作用蛋白靶点PPI网络图

表1 滋阴清骨丸治疗脊柱结核前10位核心靶点

核心靶点	UniProt ID	蛋白名称	度值
SRC	P12931	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	72
HSP90AA1	P07900	Heat shock protein HSP 90-alpha	62
PIK3R1	P27986	Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit alpha	58
MAPK1	P28482	Mitogen-activated protein kinase 1	58
PIK3CA	P42336	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha isoform	54
RELA	Q04206	Transcription factor p65	48
AKT1	P31749	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	46
JUN	P05412	Transcription factor Jun	44
VEGFA	P15692	Vascular endothelial growth factor A	44
EGFR	P00533	Epidermal growth factor receptor	42

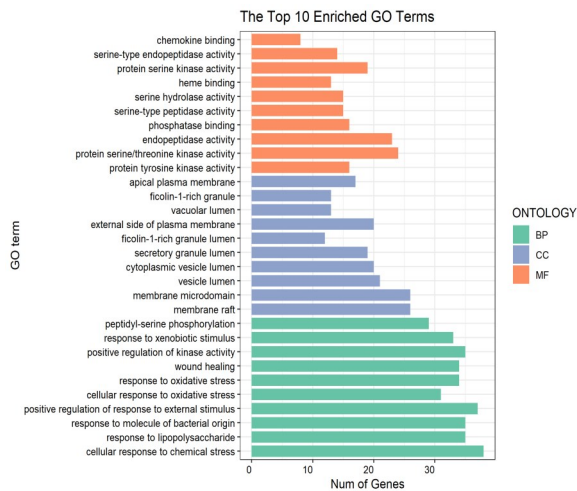


图4 GO富集分析结果柱状图(前10)

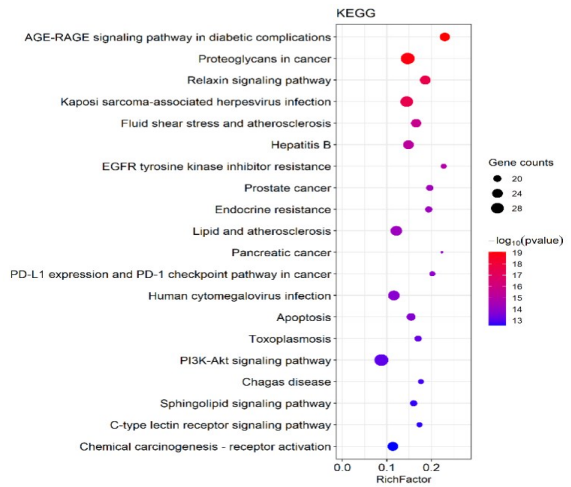


图5 KEGG分析结果气泡图(前20)

2.7 分子对接 将选择的9个化学成分与10个靶点 SRC、HSP90AA1、PIK3R1、MAPK1、PIK3CA、RELA、AKT1、JUN、VEGFA、EGFR 进行分子对接,结合能

见表2。结合能 <-5.0 kcal/mol,证明该成分与核心靶点蛋白结合性较好,结合能越小,对接效果越好。分子对接示意图见图6。

表2 滋阴清骨丸化学成分与核心靶点的分子对接分析

靶点	PDB ID	对接化合物	结合能(kcal/mol)	靶点	PDB ID	对接化合物	结合能(kcal/mol)
SRC	1A07	luteolin	-8.0	RELA	3QXY	kaempferol	-9.0
SRC	1A07	Stigmasterol	-7.7	RELA	3QXY	quercetin	-8.7
SRC	1A07	kaempferol	-7.6	RELA	3QXY	isorhamnetin	-8.7
SRC	1A07	isorhamnetin	-7.5	RELA	3QXY	hederagenin	-8.6
SRC	1A07	quercetin	-7.4	RELA	3QXY	luteolin	-8.5
SRC	1A07	sitosterol	-7.3	RELA	3QXY	sitosterol	-8.2
SRC	1A07	beta_sitosterol	-7.3	RELA	3QXY	beta-sitosterol	-8.2
SRC	1A07	hederagenin	-6.6	RELA	3QXY	Stigmasterol	-8.0
HSP90AA1	1BYQ	beta_sitosterol	-8.5	AKT1	1H10	luteolin	-5.9
HSP90AA1	1BYQ	hederagenin	-8.1	AKT1	1H10	beta_sitosterol	-5.9
HSP90AA1	1BYQ	Stigmasterol	-7.6	AKT1	1H10	Stigmasterol	-5.9
HSP90AA1	1BYQ	quercetin	-7.4	AKT1	1H10	quercetin	-5.7
HSP90AA1	1BYQ	luteolin	-7.4	AKT1	1H10	hederagenin	-5.7
HSP90AA1	1BYQ	isorhamnetin	-7.3	AKT1	1H10	isorhamnetin	-5.6
HSP90AA1	1BYQ	sitosterol	-7.2	AKT1	1H10	kaempferol	-5.4
HSP90AA1	1BYQ	kaempferol	-6.8	JUN	5FV8	luteolin	-6.2
PIK3R1	6PYU	luteolin	-7.9	JUN	5FV8	quercetin	-6.1
PIK3R1	6PYU	quercetin	-7.9	JUN	5FV8	Stigmasterol	-6.1
PIK3R1	6PYU	Stigmasterol	-7.5	JUN	5FV8	beta_sitosterol	-5.7
PIK3R1	6PYU	isorhamnetin	-7.5	JUN	5FV8	hederagenin	-5.7
PIK3R1	6PYU	kaempferol	-7.4	JUN	5FV8	isorhamnetin	-5.6
PIK3R1	6PYU	beta_sitosterol	-7.4	JUN	5FV8	sitosterol	-5.4
PIK3R1	6PYU	sitosterol	-7.1	JUN	5FV8	kaempferol	-5.3
PIK3R1	6PYU	hederagenin	-7.0	VEGFA	1BJ1	Stigmasterol	-6.3
MAPK1	4FUX	Stigmasterol	-7.9	VEGFA	1BJ1	luteolin	-6.0
MAPK1	4FUX	beta_sitosterol	-7.7	VEGFA	1BJ1	quercetin	-5.8
MAPK1	4FUX	sitosterol	-7.6	VEGFA	1BJ1	isorhamnetin	-5.8
MAPK1	4FUX	luteolin	-7.6	VEGFA	1BJ1	kaempferol	-5.7
MAPK1	4FUX	hederagenin	-7.5	VEGFA	1BJ1	hederagenin	-5.7
MAPK1	4FUX	kaempferol	-7.2	VEGFA	1BJ1	sitosterol	-4.9
MAPK1	4FUX	quercetin	-7.1	VEGFA	1BJ1	beta_sitosterol	-4.9
MAPK1	4FUX	isorhamnetin	-6.9	EGFR	1IVO	Stigmasterol	-6.5
PIK3CA	3HHM	luteolin	-8.8	EGFR	1IVO	quercetin	-6.4
PIK3CA	3HHM	quercetin	-8.7	EGFR	1IVO	luteolin	-6.4
PIK3CA	3HHM	sitosterol	-8.7	EGFR	1IVO	isorhamnetin	-6.4
PIK3CA	3HHM	Stigmasterol	-8.5	EGFR	1IVO	kaempferol	-6.2
PIK3CA	3HHM	isorhamnetin	-8.5	EGFR	1IVO	sitosterol	-6.1
PIK3CA	3HHM	beta_sitosterol	-8.3	EGFR	1IVO	beta_sitosterol	-6.1
PIK3CA	3HHM	kaempferol	-7.7	EGFR	1IVO	hederagenin	-5.9
PIK3CA	3HHM	hederagenin	-7.6				

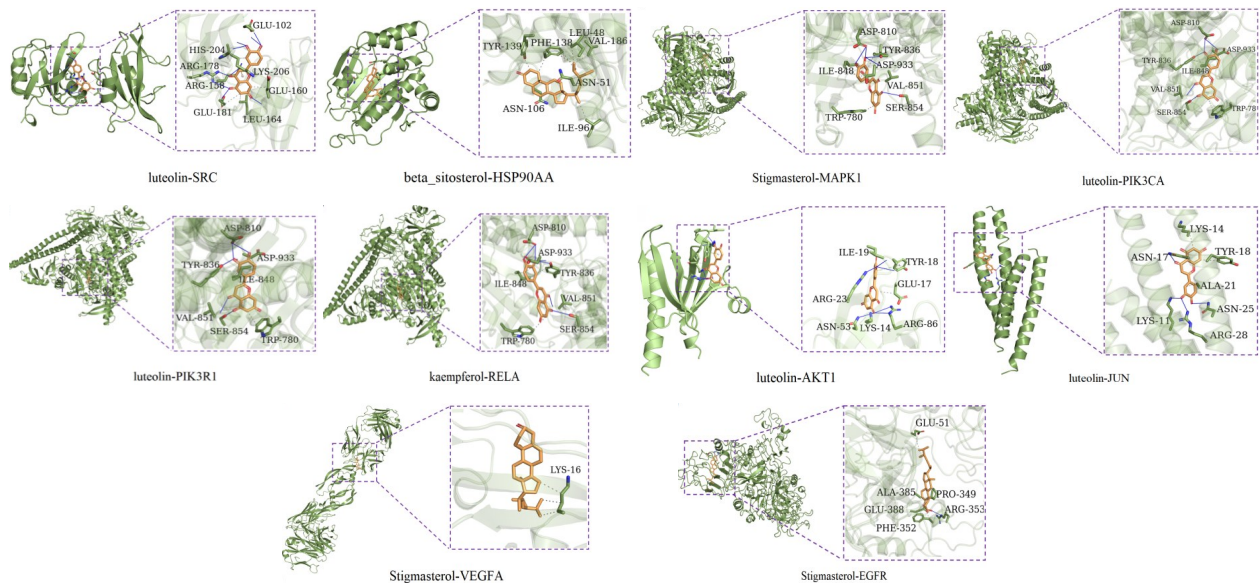


图6 滋阴清骨丸核心活性成分与关键靶点的分子对接结构图

3 讨论

3.1 滋阴清骨丸处方分析及现代药理研究 滋阴清骨丸为甘肃省中医院邓强团队对加味清骨散的改良方^[10]。组方中银柴胡能清骨髓热,治虚劳骨蒸为君药;地骨皮、胡黄连、知母、生地黄均入阴分,养阴清热除烦,清伏热于里,以治骨蒸劳热为臣药;青蒿、鳖甲滋阴潜阳,补益肝肾,又引诸药入里,能宣内伏之热出于表;当归补血活血,消肿止痛,补血生肌;生黄芪补气固表,托毒排脓,敛疮生肌,气盛才能血旺,更以骨碎补补肾强骨,共为佐药;本方重在滋阴,而白芥子性温,味辛,能散结通络止痛,化腐生新;桂枝辛、甘、温,能和营、解肌,通阳散结,在大量补阴的基础上佐以补阳药,体现“阳中求阴”的辨证思想;陈皮理气健脾,燥湿化痰;甘草益气补中,兼防苦寒药伤脾胃,共为使药。诸药配伍,共奏清骨虚热、化腐生新、滋阴生津潜阳、补血生肌之用,用于治疗脊柱结核、慢性骨感染,流注、阴疽肿毒等属阴虚内热证之虚劳骨蒸,对阴虚内热证候有良好疗效^[11-12]。

现代研究认为,滋阴清骨丸中的中药具有解热、抗炎、抗菌、滋养强壮、降低自主神经系统兴奋性、骨保护等作用,通过多组分、多靶点和多途径共同作用,间接提高杀菌和免疫反应水平,从而达到治疗和抑制细菌繁殖生长的作用^[13-15]。李军杰等^[16]研究表明,加味清骨散联合一期病灶清除术治疗阴虚内热型胸腰椎结核,对阴虚内热证候有较好的改善作用,能减轻患者疼痛,降低红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平,调节T淋巴细胞亚群,促进机体免疫应答,观察组

(联合本方干预组)在减轻骨蒸潮热和焦虑症状等方面优于对照组(未联合本方干预组),有利于术后康复。

3.2 滋阴清骨丸治疗脊柱结核的活性成分 本研究构建“药物-成分-靶点”网络发现,滋阴清骨丸的主要活性成分包括槲皮素、山柰酚、谷甾醇、 β -谷甾醇、豆甾醇、木犀草素、异鼠李素、常春藤皂苷元。分子对接后发现木犀草素、豆甾醇、 β -谷甾醇、山柰酚与核心靶点对接效果良好。

脊柱结核在发生发展过程中常伴有炎症因子参与,如白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-17及肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)在正常人体中表达水平相对较低,但在脊柱结核患者中多呈高表达^[17],能直接参与疾病的发生、发展,从而影响患者健康。费乐等^[18]发现结核分枝杆菌感染成骨细胞后TNF- α 及IL- 1β 的高表达可能是脊柱结核椎体骨质损伤较严重的机制之一。而滋阴清骨丸中的主要活性成分木犀草素有良好抗炎作用,相关研究表明,木犀草素能显著降低IL-6、IL- 1β 、TNF- α 等促炎因子表达,提高IL-10、IL-13等抗炎因子表达,能有效控制体内各类促炎介质并与体内抗炎因子形成正向动态平衡,从而减轻炎症反应^[19-21]。此外,研究还发现木犀草素有促进成骨的功效^[22]。

豆甾醇有良好抗炎作用,吴力超等^[23]发现豆甾醇能有效抑制炎症模型中炎症因子IL- 1β 和TNF- α 水平,升高抗炎因子IL-10水平。 β -谷甾醇具有抗焦虑和镇静、镇痛、免疫调节、抗菌、抗炎、促进伤口愈合、抗氧化和调节骨代谢等作用^[24-25]。山柰酚可抑制脂肪生成、炎症、氧化应激、破骨细

胞自噬和成骨细胞凋亡,同时能激活成骨细胞自噬,起到保护骨骼的作用^[26]。赵峰等^[27]研究发现,山柰酚能够上调脊神经结扎大鼠 miR-340-5p 表达,减少炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 分泌,增强自噬,减轻大鼠神经性疼痛。此外,山柰酚可减轻糖皮质激素诱导的股骨头坏死中骨微血管内皮细胞损伤和功能障碍^[28]。槲皮素有良好的抗菌、抗炎^[29]、神经保护及抗骨质疏松作用。SASIKUMAR 等^[30]发现槲皮素对结核分枝杆菌有良好抑制作用。异鼠李素抗菌、抗炎效果良好, JNAWALI 等^[31]发现异鼠李素对结核分枝杆菌 H37Rv、多重耐药性结核分枝杆菌和广泛耐药性结核分枝杆菌的临床分离菌有一定抗菌作用。常春藤皂苷元具有多种生物活性,包括抗细胞凋亡、抗炎和神经保护等^[32]。

3.3 滋阴清骨丸治疗脊柱结核的核心靶点 通过 PPI 网络可知,滋阴清骨丸治疗脊柱结核的核心靶点为 SRC、HSP90AA1、PIK3R1、MAPK1、PIK3CA、RELA、AKT1、JUN、VEGFA、EGFR。SRC 是一组非受体酪氨酸激酶的原型,参与细胞增殖、分化、迁移、侵袭及血管形成等过程^[33], SRC 酪氨酸激酶能够在转录水平方面独立于 NF- κ B 而控制炎症细胞因子产生,并可作用于下游介质 AP-1 转录因子家族,通过抑制 SRC 酪氨酸激酶杀灭结核菌^[34-35]。

HSP90AA1 具有极强的免疫应答作用,自然界各种生物致病因子均可成为应激原刺激细胞产生 HSP,参与积极有效的防御反应^[36]。研究表明, HSP90AA1 可通过 PI3K/AKT/mTOR 通路促进细胞自噬,通过 JNK/P38 通路抑制细胞凋亡^[37]。PIK3R1、PIK3CA 可由多种因子激活,参与细胞凋亡、调节代谢、膜转运等过程, PIK3R1 在异烟肼治疗结核病的过程中发挥一定作用^[38]。宋通等^[39]发现结核分枝杆菌 RelA 基因编码蛋白为不稳定性疏水性分泌蛋白,作为调节蛋白,主要参与细菌在生存压力下引起的严紧反应,调节五磷酸鸟苷和四磷酸鸟苷合成,可作为抗结核潜伏及持续感染治疗的靶点。MAPK1 作为 MAPK 信号的负调节因子,在调节细胞增殖、生长和分化中发挥重要作用,有研究发现过表达 miRN433-5p 可通过靶向 MAPK1 促进脊髓损伤大鼠功能恢复^[40]。

3.4 滋阴清骨丸治疗脊柱结核的主要信号通路 本研究通过对筛选靶点的 GO 富集分析发现,滋阴清骨丸治疗脊柱结核的生物学功能条目较多,主要集中在细胞对化学应激的反应、对外界刺激反应的正向调节、激酶活性的正向调节、对细菌来源分子的反应等方面。KEGG 通路富集分析结

果显示,“滋阴清骨丸”组方在肺结核的治疗中主要涉及 PI3K/AKT 信号通路、松弛素信号通路、C 型凝集素受体信号通路等。松弛素信号通路中富集了 SRC、PIK3R1、MAPK1、PIK3CA、RELA、AKT1、JUN、VEGFA、EGFR 等 PPI 网络 Degree 值排行前 10 的靶点,是滋阴清骨丸治疗脊柱结核关系最密切的信号通路。松弛素信号通路通过抑制 NLRP3 炎症体的活性,从而降低 IL-1 β 活性,并在抑制 NF- κ B 信号方面发挥作用,起到抑制炎症的效果^[40],与李军杰等^[16]的研究加味清骨散减轻全身炎症反应的作用相符,说明滋阴清骨丸能够通过松弛素信号通路治疗脊柱结核。松弛素信号通路的表达可能是滋阴清骨丸治疗脊柱结核的重要机制,相关功能富集及信号通路的研究也为滋阴清骨丸组方的后续科研探索提供了一定参考。

本研究借助网络药理学方法对滋阴清骨丸组方的成分和靶点,以及脊柱结核相关疾病靶点进行筛选与关联,通过网络构建、通路富集与功能挖掘,揭示了滋阴清骨丸通过多靶点、多通路治疗脊柱结核的作用机制,也将为滋阴清骨丸的进一步临床应用与研发提供更加丰富的参考与借鉴。

参考文献

- [1] 刘建,王立楠,马宏宝,等. 脊柱结核诊断及鉴别诊断的研究进展[J]. 中国当代医药, 2022, 29(19): 23-27.
- [2] 贺元,朱斌,阿海,等. 人参养荣汤配合内固定术治疗脊柱结核 30 例[J]. 西部中医药, 2019, 32(12): 90-92.
- [3] 张宏其,李亮,许建中,等. 中国脊柱结核外科治疗指南(2022 年版)[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30(17): 1537-1548.
- [4] 李元. 加速康复外科理念在脊柱结核外科中应用的专家共识[J]. 中国防痨杂志, 2023, 45(3): 225-234.
- [5] 朱博. 椎间孔镜下病灶清除加药物混合灌注联合中药内服治疗腰椎结核疗效分析[D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2017.
- [6] 乔杰. 基于扶正祛邪法探讨阳和汤治疗脊柱结核作用机制的临床和实验研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2022.
- [7] 凡军,曹丽萍. 体外研究橙皮苷抑制钛颗粒介导的破骨细胞分化[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2020, 14(6): 698-702.
- [8] JIAN J, SUN L, CHENG X, et al. Calycosin-7-O- β -d-glucopyranoside stimulates osteoblast differentiation through regulating the BMP/WNT signaling pathways[J]. Acta Pharm Sin B, 2015, 5(5): 454-460.
- [9] 黄天一,陈婷婷,崔杰,等. 阿魏酸抗成骨细胞凋亡作用及其 GPR30 相关性研究[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(3): 346-351.
- [10] 李振凯,宋乐,雷燕,等. 银柴胡生物学、化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(1): 136-140.
- [11] BAE S J, CHOI J W, PARK B J, et al. Protective effects of a traditional herbal extract from *Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* against *Mycobacterium abscessus* infections[J]. PLoS One, 2018, 13(11):

- 207696.
- [12] YANG X, GAO W, WANG B, et al. Picroside II inhibits RANKL-mediated osteoclastogenesis by attenuating the NF- κ B and MAPKs signaling pathway *in vitro* and prevents bone loss in lipopolysaccharide treatment mice[J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(12):4479-4486.
- [13] 周哲人, 马训, 么焕开, 等. 柚皮苷和木犀草素联合应用对大鼠BMSCs诱导成骨过程中Wnt/ β -cantine通路相关基因表达的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(2):258-262.
- [14] 刘路, 李凯, 胡阳, 等. 黄芪有效成分抗骨质疏松症作用机制的研究进展[J]. *中草药*, 2023, 54(4):1321-1328.
- [15] 林锐, 胡伟雄, 林涌鹏, 等. 基于数据挖掘分析邓晋丰教授治疗骨质疏松症用药规律[J]. *西部中医药*, 2022, 35(1):97-101.
- [16] 李军杰. 加味清骨散用于阴虚内热型胸腰椎结核术后疗效及对T淋巴细胞亚群的影响[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2019.
- [17] 许斌, 王子华. 加味阳和汤治疗脊柱结核临床研究[J]. *河南中医*, 2019, 39(8):1209-1212.
- [18] 费乐, 常跃良, 李志翔, 等. 布鲁氏菌及结核分枝杆菌感染大鼠成骨细胞对肿瘤坏死因子- α 及白细胞介素- 1β 表达的影响[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2021, 31(10):926-934.
- [19] AZIZ N, KIM M Y, CHO J Y. Anti-inflammatory effects of luteolin: a review of *in vitro*, *in vivo*, and *in silico* studies[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 225:342-358.
- [20] XIE K, CHAI Y S, LIN S H, et al. Luteolin regulates the differentiation of regulatory T cells and activates IL-10-dependent macrophage polarization against acute lung injury[J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021:8883962.
- [21] WANG S, CAO M, XU S, et al. Luteolin alters macrophage polarization to inhibit inflammation[J]. *Inflammation*, 2020, 43(1):95-108.
- [22] 董武, 卢孟康, 王强, 等. 木犀草素对大鼠股骨骨折愈合及Wnt/ β -catenin信号通路影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2023, 25(7):21-25.
- [23] 吴力超, 李俊峰, 张婷婷, 等. 基于网络药理学和细胞实验探讨豆甾醇抗炎作用[J]. *中成药*, 2022, 44(2):609-615.
- [24] DING K, TAN Y Y, DING Y, et al. β -Sitosterol improves experimental colitis in mice with a target against pathogenic bacteria[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4):5687-5694.
- [25] 麦嘉乐, 李建良, 肖嘉聪, 等. 基于网络药理学探析黄精抗骨质疏松的机制及验证[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(12):210-217.
- [26] WONG S K, CHIN K Y, IMA-NIRWANA S. The osteoprotective effects of kaempferol: the evidence from *in vivo* and *in vitro* studies[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:3497-3514.
- [27] 赵峰, 樊少卿, 程晓燕, 等. 山柰酚通过上调miR-340-5p减轻脊神经结扎大鼠的神经性疼痛[J]. *沈阳药科大学学报*, 2023, 40(1):75-82.
- [28] 徐鑫, 范晓宇, 吴鑫杰, 等. 山柰酚对激素诱导的股骨头坏死中内皮细胞的保护作用研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2022, 36(10):1277-1287.
- [29] CALIS Z, MOGULKOC R, BALTACI A K. The roles of flavonols/flavonoids in neurodegeneration and neuroinflammation[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2020, 20(15):1475-1488.
- [30] SASIKUMAR K, GHOSH A R, DUSTHACKER A. Antimycobacterial potentials of quercetin and rutin against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv[J]. *3 Biotech*, 2018, 8(10):427.
- [31] JNAWALI H N, JEON D, JEONG M C, et al. Antituberculosis activity of a naturally occurring flavonoid, isorhamnetin[J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(4):961-969.
- [32] LIN R, LIU L, SILVA M, et al. Hederagenin protects PC12 cells against corticosterone-induced injury by the activation of the PI3K/AKT pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:712876.
- [33] 曾琴, 聂敏海. Src激酶在肿瘤侵袭和转移中的作用研究进展[J]. *新乡医学院学报*, 2021, 38(3):293-295.
- [34] SMOLINSKA M J, HORWOOD N J, PAGE T H, et al. Chemical inhibition of Src family kinases affects major LPS-activated pathways in primary human macrophages[J]. *Mol Immunol*, 2008, 45(4):990-1000.
- [35] CHANDRA P, RAJMANI R S, VERMA G, et al. Targeting drug-sensitive and -resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* by inhibition of Src family kinases lowers disease burden and pathology[J]. *mSphere*, 2016, 1(2):1-13.
- [36] 刘德, 姚妮. 基于整合药理学和分子对接探讨辟瘟囊预防新型冠状病毒肺炎的潜在机制[J]. *实用中医内科杂志*, 2021, 35(5):1-4.
- [37] XIAO X, WANG W, LI Y, et al. HSP90AA1-mediated autophagy promotes drug resistance in osteosarcoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):201.
- [38] JIANG Y, LI Y, LIU C, et al. Isonicotinylation is a histone mark induced by the anti-tuberculosis first-line drug isoniazid[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):5548.
- [39] 宋通, 付玉荣, 伊正君. 结核分枝杆菌调节蛋白RelA结构和功能的生物信息学分析[J]. *中国病原生物学杂志*, 2017, 12(5):402-406.
- [40] NG H H, SHEN M, SAMUEL C S, et al. Relaxin and extracellular matrix remodeling: mechanisms and signaling pathways[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2019, 487:59-65.

收稿日期:2024-01-10

*基金项目:2022年中央转移支付医疗服务与保障能力提升(中医药事业传承与发展部分)——中医药人才培养重点学科建设项目(甘财社[2022]48号)。

作者简介:殷润良(1997—),男,在读硕士研究生。研究方向:中药炮制与制剂工艺研究。

△通讯作者:李喜香(1968—),女,硕士学位,硕士研究生导师,主任中药师。研究方向:中药制剂二次开发及中药新剂型研究。Email:lixixiang929@163.com。