

基于网络药理学探讨黄精治疗糖尿病性骨质疏松症的作用机制

王荣洁¹ 关智宇^{2*} 张磊¹ 闵成志¹ 余琪婷¹

1. 贵州中医药大学 贵州贵阳 550000

2. 贵州中医药大学第一附属医院骨伤科 贵州贵阳 550001

摘要：运用网络药理学分析黄精治疗 DOP 有效活性成分及作用机制。通过网络药理学获取黄精和 DOP 的共同靶点，通过 Cytoscape 软件和 STRING 数据库分析分别得到黄精治疗 DOP 的有效活性成分和核心靶点，运用 DAVID 数据库进行 KEGG 通路富集分析，确定黄精治疗 DOP 的作用机制。结果表明黄精治疗 DOP 的有效活性成分为黄芩素、薯蓣皂苷、甘草素、 β -谷甾醇等，核心靶点为 AKT1、ESR1、TP53 等，主要通过癌症通路、p53 信号通路、IL-17 信号通路等信号通路实现。本研究初步揭示了黄精能够通过多成分、多靶点、多通路治疗 DOP，为进一步研究黄精治疗 DOP 奠定了理论基础。

关键词：黄精；糖尿病性骨质疏松；网络药理学；作用机制

糖尿病性骨质疏松症 (Diabetic osteoporosis, DOP) 是糖尿病患者面临的一个常见并发症，主要由于糖尿病患者长期胰岛素缺乏或抵抗，导致钙、磷等矿物质代谢紊乱，从而引起骨量下降、骨组织微结构破坏、骨脆性增加、易发生骨折的一种全身性代谢性疾病^[1]。研究发现，目前全球糖尿病患者中骨质疏松症的患病率已达到 27.61%^[2]。另外，随着糖尿病患者数量的持续增长，研究表明^[3] 预计到 2045 年，全球 20 至 79 岁的糖尿病患者比例将由 2021 年的 10.5% 增至 12.2%，这一趋势将进一步加剧糖尿病性骨质疏松症的发生率，给社会带来沉重的经济负担。

黄精为百合科黄精属多年生草本植物的干燥根茎，性甘、味平；归脾、肺、肾经，具有补肾健脾、补气养阴、润肺等功效。研究证实黄精多糖可以通过调节 DOP 大鼠骨代谢，有效减少骨量的流失，并增加骨密度，从而达到治疗 DOP 作用，其作用机制可能与破骨细胞激活和分化相关信号通路有关^[4]。但黄精治疗 DOP 的其它活性成分及作用机制尚未得到系统性的研究和阐述。

本研究旨在通过网络药理学的方法，筛选出黄精的有效成分、黄精治疗 DOP 的靶点，对筛选出来的靶点构建“活性成分-潜在作用靶点”的网络图并进行 GO 功能富集和 KEGG 通路富集分析，以揭示黄精治疗 DOP 的潜在机制，为后续临床研究提供新思路。

1 材料与方法

1.1 黄精活性成分和作用靶点筛选

利用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP; <http://tcmspw.com/tcmsp.php>), 以口服吸收利用度 $OB \geq 30\%$, 药物相似性 $DL \geq 0.18$ 为筛选条件获取黄精的有效活性成分和作用靶点。应用 Uniprot (<https://sparql.uniprot.org/>) 数据库和 Perl 软件对检索得到靶点名称匹配对应的基因命名, 删除重复, 得到完整的黄精活性成分靶点。

应用 Uniprot (<https://sparql.uniprot.org/>) 数据库和 Perl 软件对检索得到靶点名称匹配对应的基因命名, 删除重复, 得到完整的黄精活性成分靶点。

1.2 DOP 疾病靶点

以“Diabetic osteoporosis”为关键词, 在 Gene Cards (<https://www.genecards.org/>) 和 OMIM 数据库 (<https://omim.org/>) 中获取 DOP 相关基因, 去除二者重复靶点, 得到与 DOP 靶点。

1.3 黄精治疗 DOP 潜在靶点筛选

利用微生信在线软件 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 将黄精活性成分靶点和 DOP 靶点取交集, 并绘制疾病与药物靶点的韦恩图, 得到黄精治疗 DOP 的潜在靶点

1.4 构建“活性成分-潜在作用靶点”的调控网络

利用 Perl 软件将黄精的活性成分靶点与 DOP 靶点进行一一映射, 然后利用 Cytoscape 软件 (3.7.1) 进行网络拓扑分析, 构建“黄精活性成分-DOP 疾病靶点”网络图。

1.5 构建蛋白互作 (PPI) 网络和核心靶点筛选

将黄精和 DOP 的交集靶点导入 STRING 在线数据库 (<https://string-db.org>) 中, 研究物种设置为“Homo Sapiens”, 最小互作分数值为 0.4, 构建 (PPT) 蛋白互作网络图, 并将其以 tsv 格式保存。使用 Cytoscape 软件中的插件“CytoNCA”对 PPI 网络中的靶点进行拓扑参数分析得到核心靶点。

表1 黄精有效活性成分及生物利用度 (OB)、药物相似性 (DL)

MOL ID	化合物英文名称	化合物中文名称	OB (%)	DL
MOL001792	DFV	甘草素	32.76	0.18
MOL002714	baicalein	黄芩素	33.52	0.21
MOL002959	3'-Methoxydaidzein	3'-甲氧基大豆苷元	48.57	0.24
MOL000358	beta-sitosterol	β-谷甾醇	36.91	0.75
MOL000359	sitosterol	谷甾醇	36.91	0.75
MOL003889	methylprotodioscin_qt	甲基原薯蓣皂苷	35.12	0.86
MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	(2R)-7-羟基-2-(4-羟基苯基)-4-苯丙二氢呋喃	71.12	0.18
MOL000546	diosgenin	薯蓣皂苷	80.88	0.81
MOL006331	4',5-Dihydroxyflavone	4',5-二羟基黄酮	48.55	0.19
MOL009760	sibiricoside A_qt	西伯利亚蓼苷 A	35.26	0.86
MOL009763	(+)-Syringaresinol-0-beta-D-glucoside	(+)-丁香树脂醇-0-β-D-葡萄糖苷	43.35	0.77
MOL009766	zhonghualiaoine 1	中华蓼素 1	34.72	0.78

1.6 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

将黄精和 DOP 的交集靶点导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 中, 限定物种为“Homo sapiens”, 进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, GO 功能分析主要包括生物学过程 (Biological Process, BP)、细胞组分 (Cell Component, CC) 和分子功能 (Molecular Function, MF)。再用微生信在线软件 (<http://www.bioinformatics.com.cn>) 绘图软件将富集分析结果做可视化绘图。

2 结果

2.1 黄精的活性成分与作用靶点

通过 TCSP 数据库, 以 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 为筛选条件, 剔除不符合条件的数据, 筛选出黄精活性成分 12 个 (表 1)。黄精有效活性成分对应的的作用靶点 75 个。

2.2 黄精治疗 DOP 的潜在靶点

以“Diabetic osteoporosis”为关键词, 在 GeneCards 数据库中检索到 5852 个靶点, 在 OMIM 数据库中检索到 180 个靶点, 将两数据库中获取的疾病靶点取交集, 删除重复得到 5865 个 DOP 相关靶点。将黄精活性成分靶点和 DOP 疾病相关靶点取交集, 得到黄精治疗 DOP 的 59 个潜在靶点 (图 1)。

2.3 “活性成分-潜在作用靶点”调控网络分析

利用 Cytoscape 软件构建“黄精活性成分-DOP 疾病靶点”调控网络图 (图 2)。该网络包括 67 个节点, 103 条边。

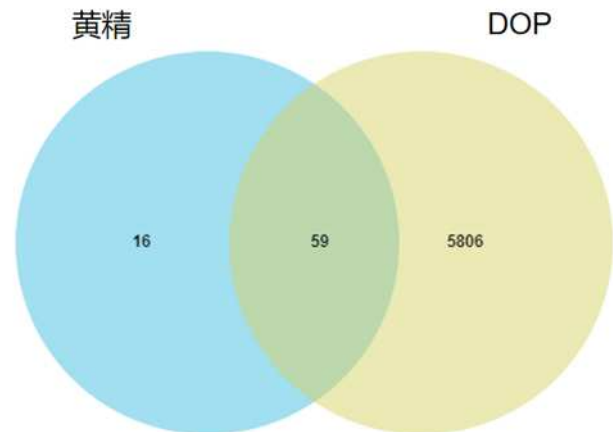


图1 黄精和 DOP 共有靶点韦恩图

红色代表黄精的活性成分, 蓝色代表黄精和 DOP 共同靶点。结果表明, 黄芩素、薯蓣皂苷、3'-甲氧基大豆苷元、甘草素、β-谷甾醇等可能是黄精治疗 DOP 的重要活性成分。

2.4 PPI 网络构建和核心靶点筛选

将黄精和 DOP 的交集靶点导入 STRING 在线数据库中构建 PPI 网络。如图 3 所示, 该网络包括 59 个节点, 570 条边。将得到的 PPI 网络导入 Cytoscape 软件中进行拓扑参数度值 (degree) 计算, 对 degree 值排名前 10 的排列为 AKT1、ESR1、TP53、MMP9、PTGS2、CASP3、FOS、HIF1A、BCL2、HSP90AA1。以上靶点可能在黄精治疗 DOP 的机制中具有重要的研究意义 (图 4)。

2.5 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 数据库对黄精和 DOP 的交集靶点进行 GO 功能富集分析，共获得 452 个条目 ($P < 0.05$)，分别取显著性最强的前 10 位进行可视化分析 (图 5)。其中生物学过程 (BP) 有 324 个条目，包括对异生物刺激的反应、对有毒物质的反应、RNA 聚合酶 II 对转录的正向调节、细胞凋

亡过程等。细胞组分 (CC) 有 46 个条目，包括核质、含蛋白质的复合体、细胞核、染色质等。分子功能 (MF) 有 82 个条目，包括酶结合、核受体活性、转录激活子结合、相同蛋白结合等。

KEGG 通路富集分析，得到相关通路 133 条 ($P < 0.05$)，选择富集比较明显的前 20 条进行可视化分析 (图 6)。主要富集通路包括癌症通路、乙型肝炎、小细胞肺癌、p53 信号通路、内分泌抵抗、细胞衰老、丙型肝炎、IL-17 信号通路等。结果表明，黄精能够通过多通路治疗 DOP。

糖尿病性骨质疏松症是由于糖尿病患者长期处于高糖

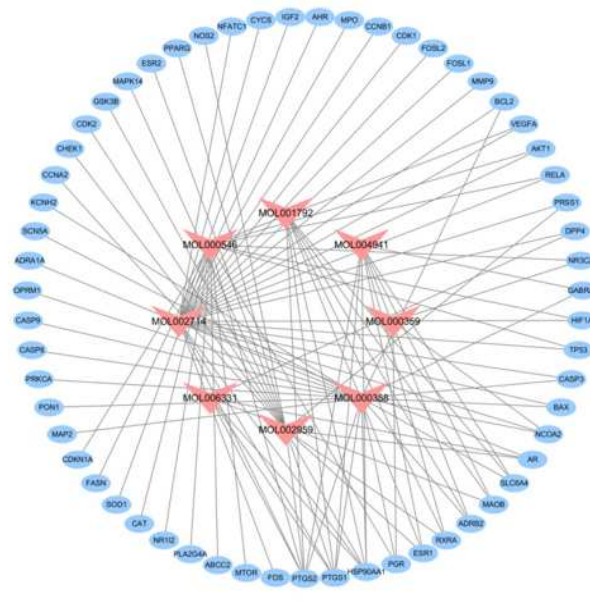


图 2 “黄精活性成分 -DOP 疾病靶点” 网络图

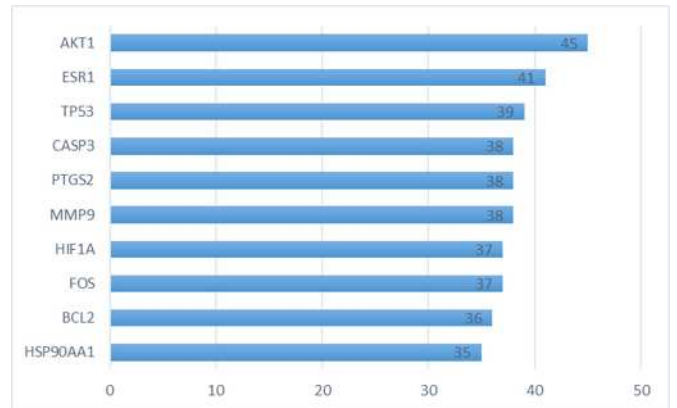


图 4 黄精治疗 DOP 的核心靶点条形图

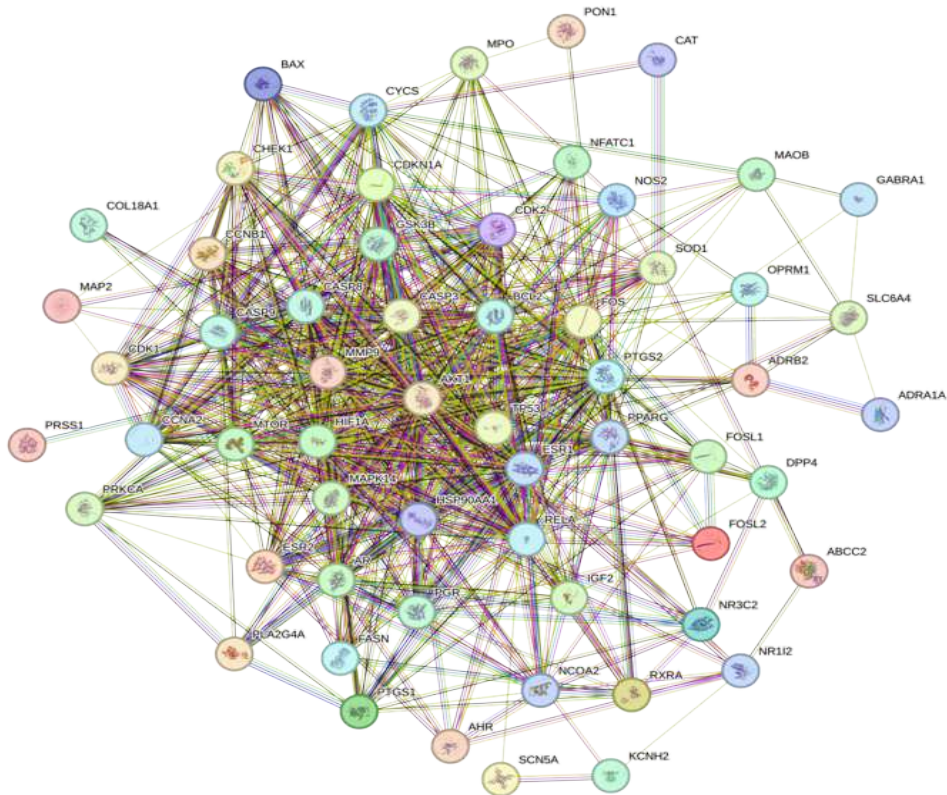


图 3 PPI 网络图

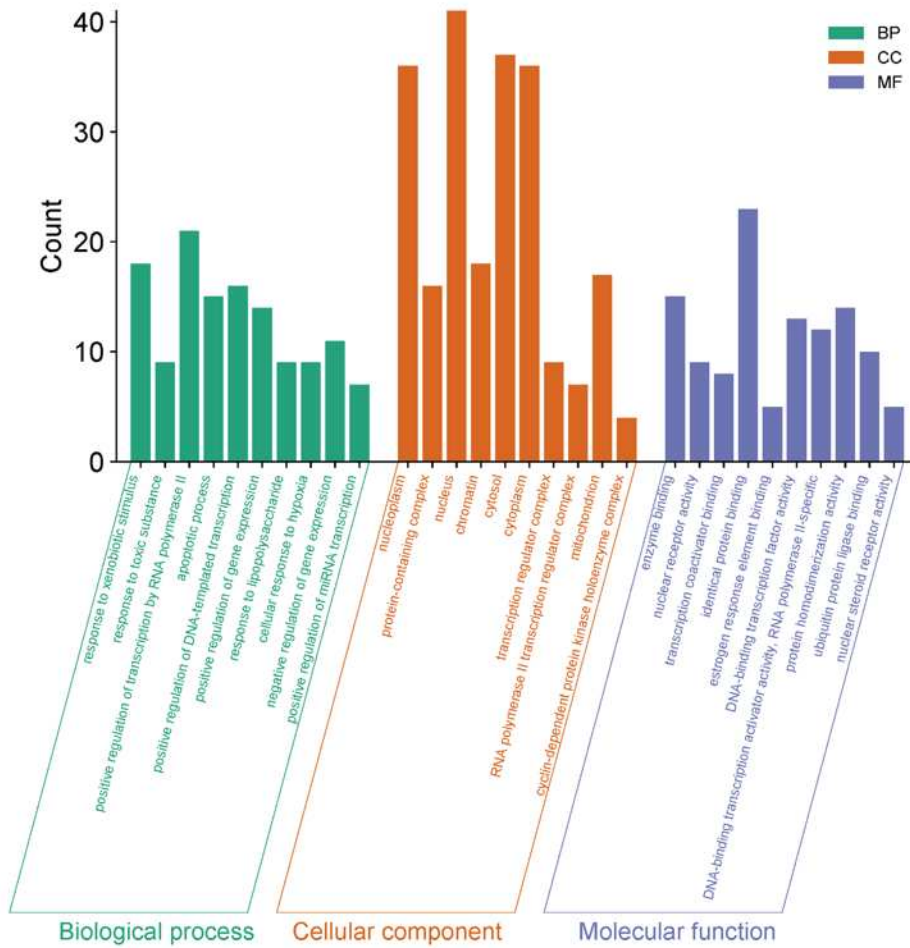


图 5 GO 功能富集分析柱状图

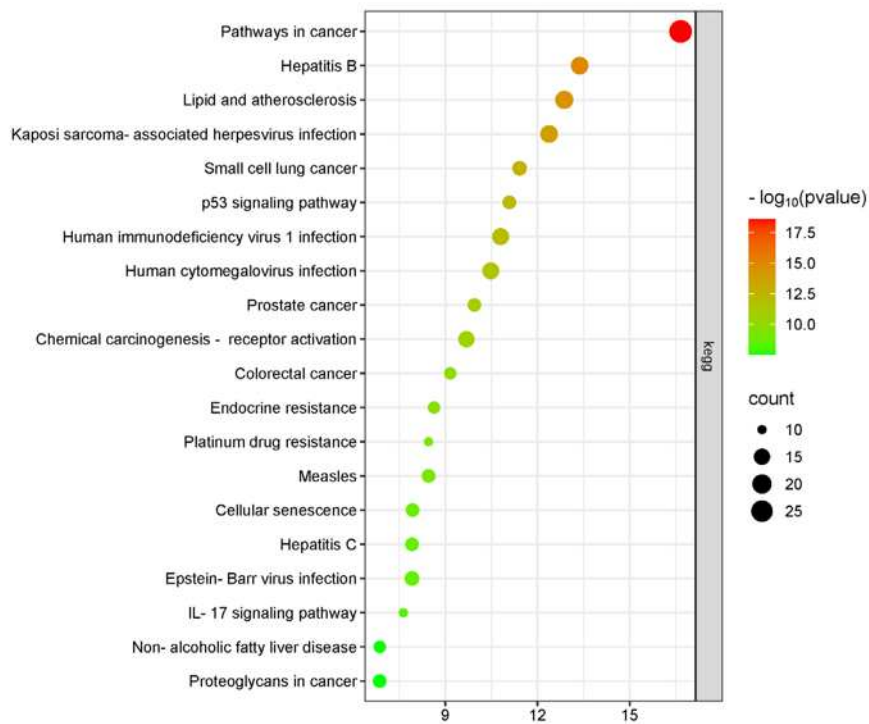


图 6 KEGG 通路富集分析气泡图

状态导致的胰岛缺乏或抵抗引起糖基化合物堆积，进而影响成骨细胞对胶原蛋白的黏附能力，导致成骨细胞功能受到抑制，骨转换率下降，造成骨形成减少而骨吸收增加，从而导致骨质疏松或骨折的发生^[5]。已有研究证实了黄精具有防治DOP的作用，但由于中药具有多成分、多靶点和多途径的作用特点，使得中药药效和作用机制不够明确。因此，本研究运用网络药理学的方法，深入探讨黄精的活性成分及其在治疗DOP过程中的潜在作用机制。

本研究通过构建“活性成分-潜在作用靶点”调控网络发现黄芩素、薯蓣皂苷、甘草素、 β -谷甾醇等可能是治疗DOP的潜在有效成分。研究发现黄芩素通过长循环脂质体的递送能够降低大鼠血糖和促炎因子，从而改善糖尿病模型大鼠的肝、肾、胰腺状态，有效抑制糖尿病诱导的骨质疏松症^[6]。薯蓣皂苷已被证实具有降糖和抗骨质疏松的作用^[7-8]。邱宇^[9]研究发现甘草素可以缓解去卵巢骨质疏松小鼠的骨流失，促进MC3T3-E1细胞的成骨分化的作用。 β -谷甾醇被证实可通过上调 β -catenin信号通路，促进成骨分化，延缓骨丢失，发挥抗绝经后骨质疏松的作用^[10]。

通过PPI网络对靶点进行拓扑分析，按degree值排序AKT1、ESR1、TP53、MMP9、PTGS2、CASP3、FOS等可能是黄精治疗DOP的核心靶点。这些基因靶点可能通过影响异生物刺激的反应、对有毒物质的反应、RNA聚合酶II对转录的正向调节、细胞凋亡过程等，从基因水平上促进DOP的治疗。

KEGG通路富集分析结果显示，黄精可以通过癌症、p53、IL-17等信号通路来发挥治疗DOP的作用。由于癌症患者体内的胰岛素缺乏，常常会引起糖类、蛋白质以及脂肪的代谢出现异常。此外，化疗药物会损伤胰腺及其它正常组织，从而减少胰岛素的分泌，导致糖代谢失调，进而增加糖尿病的风险^[11]。p53基因是细胞周期、细胞凋亡、细胞衰老和基因组稳定性的主要调节因子，高血糖促发活性氧升高会造成DNA的损伤来激活p53信号通路，从而诱发细胞的衰老和凋亡^[12]。ANXA2在成骨细胞分化终末阶段发挥成骨矿化的作用，研究发现添加ANXA2可以抑制p53通路下高糖诱导的间充质干细胞的衰老，而ANXA2的敲低会增加p53的表达，导致细胞周期停滞，发生糖尿病性骨质疏松症^[13]。IL-17是一种促炎因子，发现糖尿病会导致IL-17和炎症增加，从而增加破骨细胞生成，导致骨质流失^[14]。

综上所述，黄精能够通过多成分、靶点、多通路治疗DOP，为进一步研究黄精治疗DOP的机制提供了客观的理论支持和参考依据，但还需通过实验研究来进行验证。

参考文献：

[1] Fei Y, Zhang M, Li M, et al. Element analysis in femur of diabetic osteoporosis model by SRXRf microprobe[J]. *Micron*, 2007, 38(6):637-642.
[2] Liu X, Chen F, Liu L, et al. Prevalence of

osteoporosis in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *BMC Endocrine Disorders*, 2023, 23(1):1.

[3] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Research And Clinical Practice*, 2022, 183:109-119.

[4] 程妍, 张守伟, 李宜国. 基于OPG/RANKL信号通路探讨黄精多糖对糖尿病大鼠骨质疏松骨代谢的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(16):4029-4033.

[5] 王玉楠, 许琳, 吴瑶强, et al. 2型糖尿病患者合并骨量减少及骨质疏松症相关影响因素分析[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(008):1045-1048.

[6] Jing D B, Yu S P, Zhuang X H, et al. Preparation of Baicalein Long-Circulating Liposome and Its Effect on Bone Implantation in Diabetic Rats[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2023, 19(3):383-396.

[7] 徐在革, 敖文, 黄婷, 等. 薯蓣皂苷激活PERK-Nrf2-HO-1通路改善糖尿病小鼠胰岛素抵抗的机制探究[J]. *实用药物与临床*, 2022, 25(11):966-971.

[8] 蒋太平, 关智宇, 刘志伦, 等. 薯蓣皂苷通过ER α /miR503/RANK信号通路抑制破骨细胞生成[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(1):6-10.

[9] 邱宇. 甘草素对去卵巢骨质疏松模型小鼠的保护作用及机制研究[D]. 重庆医科大学, 2021.

[10] 谭雅文, 原茵, 吴紫璇, 等. 矮地茶治疗骨质疏松症的网络药理学分析及实验研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(08):1468-1477.

[11] 万桂玲, 吴仕光, 魏奎秀. 恶性肿瘤与糖尿病的相关性[J]. *齐鲁医学杂志*, 2005, (06):478-480.

[12] Macip S, Igarashi M, Berggren P, et al. Influence of Induced Reactive Oxygen Species in p53-Mediated Cell Fate Decisions[J]. *Molecular & Cellular Biology*, 2003, 23(23):8576-85.

[13] Klabklai P, Phetfong J, Tangporncharoen R, et al. Annexin A2 improves the osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells exposed to high-glucose conditions through lessening the senescence[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(20):12521.

[14] Huang Z, Pei X, Graves D T. The Interrelationship Between Diabetes, IL-17 and Bone Loss[J]. *Current Osteoporosis Reports*, 2020, 18(1):23-31.