

# 红景天治疗膝骨关节炎的网络药理学研究

李杰辉 周毅 张璇\*

广西中医药大学 广西南宁 530001

**【摘要】**目的：基于网络药理学探讨红景天治疗膝骨关节炎的潜在分子机制研究。方法：从ETCM数据库及TCM-ID数据库收集红景天的有效成分，使用SwissTargetPrediction平台预测有效成分的靶点信息，构建PPI网络，使用R软件对红景天治疗KOA的作用靶点进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析。结果：蛋白互作网络发现AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1、SRC等可能是红景天治疗KOA关键靶点。KEGG通路富集分析获得134条通路，其中包括有PI3K-Akt信号通路、HIF-1信号通路等这些与KOA相关信号通路。结论：红景天各有效成分通过多靶点、多途径、多信号通路起到协同治疗KOA作用，为进一步深化红景天对治疗KOA的研究和优化实验设计提供新的思路和方法。

**【关键词】**：骨关节炎；红景天；网络药理学；分子机制

## Network Pharmacological Study on Rhodiola in Treating Knee Osteoarthritis

Jiehui Li, Yi Zhou, Xuan Zhang\*

Guangxi University of Traditional Chinese Medicine Guangxi Nanning 530001

**Abstract:** Objective: To explore the potential molecular mechanism of Rhodiola in the treatment of knee osteoarthritis based on network pharmacology. Methods: The effective components of Rhodiola were collected from ETCM database and TCM-ID database, the target information of effective components was predicted using SwissTargetPrediction platform, and the PPI network was constructed. The GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed on the target of Rhodiola for KOA treatment using R software. Results: The protein interaction network found that AKT1, EGFR, STAT3, MAPK1, SRC, etc. may be the key targets of Rhodiola in the treatment of KOA. The enrichment analysis of KEGG pathway obtained 134 pathways, including PI3K-Akt signal pathway, HIF-1 signal pathway and other KOA related signal pathways. Conclusion: The effective components of Rhodiola have synergistic effects on KOA through multiple targets, multiple pathways and multiple signal pathways, providing new ideas and methods for further deepening the research of Rhodiola on KOA and optimizing experimental design.

**Keywords:** Osteoarthritis; Rhodiola; Network pharmacology; Molecular mechanism

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种慢性关节疾病,它不仅是关节软骨的机械性退化,还包括关节滑膜、半月板、关节周围韧带和软骨下骨等整个关节的结构和功能改变,是整个滑膜关节的炎症疾病<sup>[1]</sup>,随着我国人口老龄化的加速,50岁以上人口患骨关节炎的概率为5%左右,60岁以上人口发病率可达20%,其中KOA患者所占比例最高可达78.5%<sup>[2]</sup>,目前临床治疗KOA治疗的重点在于缓解症状,药物的使用主要是对症治疗,并不能有效阻止OA病情发展<sup>[3]</sup>。中医药在KOA的治疗上具有见效快,副作用少,改善生活质量等优点。红景天是传统中药,现代研究表明该药具有抗糖尿病、抗癌、抗炎、抗骨质疏松和抗细胞凋亡等作用<sup>[4]</sup>。本文利用网络药理学查找出红景天的有效物质,并对治疗KOA作用靶点及分子机制进行研究,为后期药物研发及疾病治疗提供参考。

### 1 材料和方法

#### 1.1 活性成分的筛选

在TCM-ID和ETCM检索红景天的化学成分。在SwissADME平台根据药代动力学和药物相似性筛选出关键生物活性成分。

#### 1.2 活性成分靶点的预测

利用SwissTargetPrediction数据库预测每个关键有效成分的潜在作用靶点,将得到的靶点合并去重,所得结果即为红景天活性成分潜在靶点。

#### 1.3 疾病靶点的预测

以“膝骨关节炎”的英文“Knee Osteoarthritis”为关键词从GeneCards数据库和OMIM数据库下载疾病靶点信息,将两个数据库下载结果合并去重得即为骨关节炎相关靶点。

#### 1.4 潜在作用靶点预测

将红景天中活性成分的靶点和骨关节炎的相关靶点经“Venny2.1.0”取交集,获得红景天治疗KOA的关键靶点。

#### 1.5 “药物-活性成分-作用靶点”网络的构建

根据得到的红景天治疗KOA的关键靶点,整合对应有效成分,导入Cytoscape软件中,建立靶点-有效成分网络,得到“药物-活性成分-作用靶点网络”。

#### 1.6 PPI网络的构建

将红景天治疗KOA的关键靶点导入STRING数据库以置信度得分>0.4为筛选参数分析红景天治疗KOA的靶点之间的相互作用关系,运用Cytoscape软件构建蛋白互作网络,并通过Network Analyzer工具分析网络中节点的度值,根据度值的排序确定核心靶点。

#### 1.7 GO富集分析与KEGG富集分析

利用DAVID数据库对潜在靶点进行GO功能富集分析,研究红景天治疗KOA生物功能;KEGG富集分析潜在靶点的相关通路,研究红景天治疗KOA的主要信号通路, $P < 0.05$ 代表富集结果显著。最后利用R语言软件绘制GO富集分析图及KEGG富集分析气泡图。

## 2 结果

### 2.1 活性化合物的筛选

共收集得到有效成分20个，筛选去重汇总后共得到10个关键有效成分活性，有山奈酚，芳樟醇(+)，辛醇，3-甲基-2-丁烯醛，没食子酸乙酯，红景天苷，7-羟基香豆素，咖啡酸，没食子酸，酪醇，

### 2.2 红景天治疗膝骨关节炎潜在作用靶点预测

筛选出有效活性成分10个，得到红景天作用靶点219个；获得膝骨关节炎的相关靶点2492个，通过Venny平台取交集后显示，红景天与膝骨关节炎药物-疾病交集靶基因共101个。

### 2.3 “药物-活性成分-作用靶点”网络

利用Cytoscape软件中构建红景天活性成分-靶点-KOA调控网络，见图1。图中橙色节点表示KOA，蓝色节点表示与KOA密切相关的作用靶点，红色节点表示红景天，绿色节点表示与“红景天”中的各种有效成分。

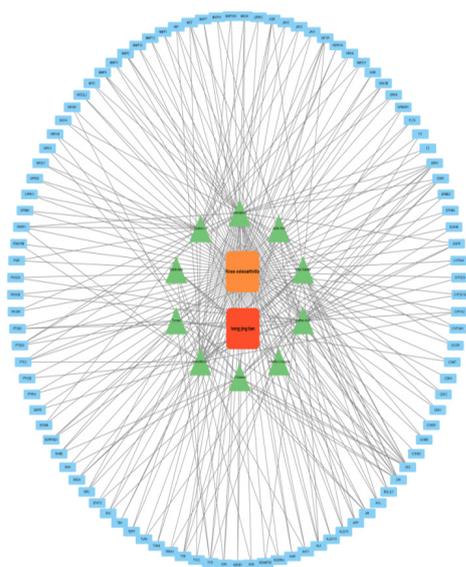


图1 红景天活性成分-靶点-OA调控网络

### 2.4 PPI网络及网络拓扑分析

通过STRING数据库以置信度得分>0.4为筛选参数分析。通过Network Analyzer工具分析网络中节点的DC和BC值。度值排名前5的靶点是AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1、SRC，这5个靶点可能是红景天治疗KOA的关键靶点。

### 2.5 GO富集分析和KEGG富集分析

GO分析得到共116个条目(P<0.05)。结果显示，生物学过程的相关条目主要包括对氧化应激反应、细胞增殖与凋亡等；细胞组成的相关条目主要包括纤维状胶原三聚体、囊泡腔等；分子功能的相关条目主要包括蛋白质磷酸酶结合、核心启动子结合等。KEGG通路富集分析共得到134条通路，主要涉及PI3K-Akt信号通路、HIF-1信号通路等。

## 3 讨论

中医学认为KOA属“痹证”“骨痹”范畴，始载于

《黄帝内经》。《素问·长刺节论篇》曰：“病在骨，骨重不可举，骨髓酸痛，寒气至，名曰骨痹。”其病因为素体肝肾亏虚，肌腠不能抵御邪气，为外感风寒湿邪，诸邪裹结，合而为痹。因此，临床常采用补益肝肾、强筋壮骨为治法进行论治<sup>[5]</sup>。本研究通过网络药理学从微观角度初步挖掘、分析红景天治疗膝骨关节炎的分子机制。

药物活性成分-靶点网络结果分析可知，山奈酚对应AKT1、EGFR、SRC、PTGS2，7-羟基香豆素对应AKT1、EGFR，咖啡酸对应EGFR、STAT3、MAPK1，没食子酸乙酯对应SRC。山奈酚具有显著的抗炎作用，其作用机制主要包括调节促炎酶的活性和炎症相关基因表达，如抑制转录因子、黏附分子以及基质金属蛋白酶(MMPs)等<sup>[6]</sup>。研究发现<sup>[7]</sup>咖啡酸通过抑制NF-κB和MAPK相关的JNK信号通路来抑制IL-1β诱导的炎症反应。咖啡酸阻止了关节软骨IL-1β体内器官培养诱导的软骨损伤，可以抑制IL-1β诱导的iNOS和COX2等炎症因子的产生增加。研究显示多酚类化合物没食子酸乙酯具有较强的抗炎活性<sup>[8]</sup>。可以认为，山奈酚、7-羟基香豆素、咖啡酸、没食子酸乙酯可能是红景天治疗KOA的关键有效成分。

通过分析共有靶点和PPI蛋白互作网络，AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1、SRC可能是“红景天治疗KOA”的核心作用靶点。AKT1是AKT激酶家族的成员之一，有研究表明在骨关节炎软骨细胞中，下调AKT1表达，可抑制细胞增殖，促进细胞凋亡<sup>[9]</sup>。EGFR是上皮生长因子(EGF)细胞增殖和信号传导的受体。EGFR激活后能启动多种关键信号通路，其中研究最多的是PI3K/Akt、JAK/STAT，PI3K/Akt在KOA的发生发展中起着重要的信号转导作用<sup>[13]</sup>。MAPK1参与了多条信号通路，如T细胞受体信号通路，研究表明，MAPK1则在体外实验中被证实通过促进其高表达治疗骨关节炎<sup>[10]</sup>，SRC是由许多细胞外信号分子激活的非受体蛋白酪氨酸激酶，研究表明在骨关节炎等疾病中SRC对软骨细胞表型的维持方面有重要作用<sup>[11]</sup>。故红景天可能通过调控以上关键靶点起到治疗OA的作用。

基因GO功能分析和KEGG富集分析结果表明，红景天治疗KOA涉及多方面生物学过程和多条重要信号通路参与，尤其在氧化应激反应、细胞增殖与凋亡、免疫细胞及免疫反应、炎症因子及炎症反应、脂多糖的细胞反应等多种生物过程和细胞周期、炎症与内分泌等相关信号通路发挥治疗骨关节炎的作用。KEGG分析显示红景天治疗KOA的主要信号通路有PI3K-Akt信号通路、HIF-1信号通路等。PI3K/AKT通路在细胞中广泛存在，是促进细胞增殖、抑制细胞凋亡和调控细胞分化关键通路之一。在KOA早期PI3K/AKT信号通路就被激活，在骨性关节炎的发生发展中扮演重要的角色<sup>[11]</sup>。研究发现，PI3K/Akt通路被激活后使Akt迅速活化，并进一步磷酸化为P-Akt丰富下游靶点Bax，增强Bcl-2因子的转录，发挥细胞的抗凋亡作用<sup>[12]</sup>，PI3K/Akt信号通路的激活调控下游因子Bcl-2、Bax的表达发生变化，与膝骨关节炎进程中软骨细胞凋亡有着密切的联系。干预细胞周期相关的HIF-1通路，在骨发育、再生与成骨结合过程中起着至关重要的作用，可介导软骨

细胞对缺氧的反应，促进细胞外基质合成和抑制凋亡，在软骨内稳中起关键作用，研究表明HIF-1 $\alpha$ 可通过抑制 $\beta$ -catenin转录活性下调软骨细胞中MMP13的表达，从而延缓骨关节炎的疾病进展，缺乏HIF-1 $\alpha$ 则可加速软骨的分解代谢。以上结果表明红景天很有可能通过调控PI3K-Akt信号通路、HIF-1信号通路等发挥治疗膝骨关节炎的作用。

本研究利用网络药理学对膝骨关节炎治疗靶点及红景天的有效成分及作用靶点与机制进行了初步的筛选与分析，为研究红景天治疗膝骨关节炎的药效物质基础与作用机制研究提供了依据。研究中共收集得到有效成分20个，筛选去重汇总后共得到10个关键有效成分。利用SwissTargetPrediction平台预测得到219个有效药物靶点。

### 参考文献:

- [1]张春雷,李冀.膝骨关节炎的中医药治疗进展[J].中医药学报,2022,50(1):106-110.
  - [2]章晓云,曾浩,李华南,等.痛风性关节炎的发病机制及中医药治疗研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(11):256-267.
  - [3]苏奇,张文贤,王斌,严其凯,赵建伟.膝骨关节炎的中医治疗进展[J].甘肃科技,2022,38(08):128-131.
  - [4]韩雪娇,郭娜,朱美宣,等.红景天苷药理作用及其作用机理研究进展[J].中国生化药物杂志,2015,35(01):171-175.
  - [5]丘志河,谢卫勇,黄刚等.山奈酚通过调控miR-21/SOX9对骨关节炎软骨细胞增殖、凋亡的影响[J].中国药师,2022,25(12):2073-2078.
  - [6]姚文琴,王定瑜,刘元忠,等.狭叶崖爬藤对类风湿关节炎大鼠的免疫调节作用[J].医药导报,2016,35(02):141-143.
  - [7]赵磊,张会敏,徐美利,等.甜叶菊废渣提取物及其主要成分异绿原酸的抗炎作用[J].中国食品学报,2021,21(05):117-124.
  - [8]孙标,邓翠翠,王加,等.黄芩苷对大鼠类风湿性关节炎软骨损伤的影响[J].广州中医药大学学报,2021,38(07):1440-1446.
  - [9]刘春芳,何莲花,王靖霞,等.风湿祛痛胶囊对类风湿关节炎滑膜Akt和MAPK信号通路的影响[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(13):35-40.
  - [10]周泽浩,阎伟,李金松等.信号通路在骨关节炎发生中作用的研究进展[J].山东医药,2022,62(13):91-94.
  - [11]张璇,柳直,姚五平等.从炎症角度探讨补益肝肾类中药复方防治膝骨关节炎[J].中医药临床杂志,2022,34(02):218-222.
  - [12]于洋,宋永才,杨立峰.复合骨碎补总黄酮的丝素蛋白/壳聚糖支架在兔关节软骨损伤中的应用研究[J].中国临床解剖学杂志,2022,40(06):696-703.
  - [13]廖太阳,王培民,茆军等.缺氧诱导因子在膝关节炎发病机制中作用研究[J].临床误诊误治,2020,33(08):107-112
- 基金项目：广西自然科学基金项目（2021GXNSFAA196033）

从GeneCards数据库和OMIM数据库得到2492个KOA的相关基因，药物与疾病共有靶点101个。蛋白互作网络发现AKT1、EGFR、STAT3、MAPK1、SRC等可能是红景天治疗KOA关键靶点。GO富集分析得到116个GO条目，涉及氧化应激反应、细胞周期调控、等方面。KEGG通路富集分析获得134条通路，其中包括有PI3K-Akt信号通路、HIF-1信号通路等这些与KOA相关信号通路。此外，本研究尚存在一些缺点。首先，由于筛选条件的限制，只能分析红景天中主要化合物，因此在一定程度上限制了研究结果。其次，通过网络药理学可以筛选很多目标和途径，但这些结果还需要通过药理学实验得到验证。