

本文引用:王伟伟,欧志学,章晓云,李时斌,周毅,李统. 壮瑶药生骨汤治疗激素性股骨头缺血性坏死的临床疗效评价及网络药理学机制初探[J]. 湖南中医药大学学报,2022,42(4): 642-650.

壮瑶药生骨汤治疗激素性股骨头缺血性坏死的临床疗效评价及网络药理学机制初探

王伟伟¹,欧志学^{2*},章晓云¹,李时斌¹,周毅¹,李统¹

(1.广西中医药大学附属瑞康医院,广西 南宁 530000;2.桂林市中医医院,广西 桂林 541002)

[摘要] **目的** 运用 Meta 分析对壮瑶药生骨汤治疗激素性股骨头缺血性坏死的临床疗效进行系统评价,并运用网络药理学对其作用机制进行初探。**方法** 检索相关数据库,时间从建库至 2021 年 1 月,查找对象为生骨汤治疗激素性股骨头缺血性坏死的随机对照试验研究,采用 RevMan 5.3 软件对纳入文献进行质量评价以及 Meta 分析。并运用网络药理学筛选生骨汤成分、靶点以及激素性股骨头缺血性坏死靶点,进行映射,映射结果采用生物信息学进行注释,并运用分子对接技术对其进行验证。**结果** (1)共纳入 5 篇文献,394 例患者,结果提示生骨汤可显著提高临床总有效率和综合疗效评分,降低患者空骨陷窝概率。(2)网络药理学分析得到活性成分 40 个,共有靶点 94 个,关键成分为木犀草素、去甲汉黄芩素、牵牛花色素、2'-羟基染料木素、染料木素,蛋白质相互作用网络图以及关键蛋白模块图提示壮瑶药生骨汤主要通过诱导 SRC、VEGFA、MMP9、PLG、MAPK14 等核心靶点起到治疗作用。(3)GO、KEGG 富集分析结果显示,生骨汤通过以上关键核心靶点影响 PI3K/Akt、HIF-1、MAPK 等主要信号通路,集中调控蛋白水解、信号传导、胶原分解代谢等生物过程来发挥治疗激素性股骨头缺血性坏死作用。(4)分子对接结果显示,关键活性成分与核心靶点结合能均小于参考值,具有较好结合活性。**结论** 壮瑶药生骨汤能显著提高激素性股骨头缺血性坏死患者临床总有效率和综合疗效评分,降低其空骨陷窝概率;其中木犀草素、去甲汉黄芩素、牵牛花色素、2'-羟基染料木素、染料木素等为关键活性成分,通过调节新生血管生成、凝血系统以及骨细胞的增殖、凋亡、分化等达到治疗效果。

[关键词] 生骨汤;激素性股骨头缺血性坏死;Meta 分析;网络药理学;分子对接;壮瑶药

[中图分类号]R274

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.04.021

Evaluation of clinical efficacy and network pharmacology mechanism of Zhuangyao medicine Shenggu Decoction in the treatment of steroid-induced avascular necrosis of femoral head

WANG Weiwei¹, OU Zhixue^{2*}, ZHANG Xiaoyun¹, LI Shibin¹, ZHOU Yi¹, LI Tong¹

(1. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi 530000, China;

2. Guilin Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guilin, Guangxi 541002, China)

[Abstract] **Objective** To systematically evaluate the clinical efficacy of Zhuangyao medicine Shenggu Decoction in the treatment of steroid-induced avascular necrosis of femoral head by Meta analysis, and to explore its mechanism of action by network pharmacology. **Methods** Relevant databases were searched from the establishment of the database to January 2021, to search for randomized controlled trials of Shenggu Decoction in the treatment of steroid-induced avascular necrosis of femoral head, and RevMan 5.3 software was used to evaluate the quality of the included literature as well as Meta analysis.

[收稿日期]2021-04-15

[基金项目]国家自然科学基金项目(81960803);广西自然科学基金青年基金项目(2020GXNSFBA159053);广西高校青年教师基础能力提升项目(2019KY0352);广西中医药大学 2019 年校级科研课题(2019QN027);广西中医药大学一流学科课题(2019XK026,2019XK029);广西崇左市科技计划项目(崇科 FC2019006)。

[第一作者]王伟伟,男,硕士研究生,研究方向:骨与关节疾病及运动损伤研究。

[通信作者]* 欧志学,男,主任医师,博士,E-mail:ouzixue1028@126.com。

Network pharmacology was used to screen the components, targets of Shenggu Decoction and targets of steroid-induced avascular necrosis of femoral head, and mapped. The mapping results were annotated by bioinformatics, and verified by molecular docking technology. **Results** (1) A total of 5 literatures and 394 patients were included. The results indicated that Shenggu Decoction could significantly improve the clinical total effective rate and comprehensive efficacy score, and reduce the probability of patients with empty bone lacuna. (2) Network pharmacology analysis obtained 40 active ingredients, there were 94 targets in total, and the key components were luteolin, norwogonin, morning glory, 2'-hydroxygenistein, and genistein. The protein-protein interaction network map and the key protein module map suggested Zhuangyao medicine Shenggu Decoction mainly plays a therapeutic role by inducing core targets such as SRC, VEGFA, MMP9, PLG, and MAPK14. (3) The results of GO and KEGG enrichment analysis showed that Shenggu Decoction affected major signaling pathways such as PI3K/Akt, HIF-1, and MAPK through the above key core targets, and centrally regulated biological processes such as proteolysis, signal transduction, and collagen catabolism to play a role in the treatment of steroid-induced avascular necrosis of femoral head. (4) Molecular docking results showed that the binding energies of key active ingredients and core targets were all lower than the reference value, indicating good binding activity. **Conclusion** Zhuangyao medicine Shenggu Decoction can significantly improve the clinical total effective rate and comprehensive efficacy score in patients with steroid-induced avascular necrosis of femoral head, and reduce the probability of empty bone lacuna; luteolin, norwogonin, morning glory, 2'-hydroxygenistein, and genistein are key active ingredients, which achieve therapeutic effects by regulating angiogenesis, coagulation system, and proliferation, apoptosis, and differentiation of bone cells.

[**Keywords**] Shenggu Decoction; steroid-induced avascular necrosis of femoral head; Meta analysis; network pharmacology; molecular docking; Zhuangyao medicine

股骨头坏死是一种临床上常见的骨科疑难杂病,临床上按照病因将其分为创伤性与非创伤性两类,非创伤性多由激素过量使用以及饮酒过度所致^[1]。相关研究表明^[2],广西地区使用激素治疗自身免疫性疾病从而导致激素性股骨头缺血性坏死(steroid-induced avascular necrosis of femoral head, SANFH)的患者约占 70.08%。其发病率、致残率常年居高不下,医疗资源被大量浪费,已严重拖累社会经济的发展^[3]。而目前多采用手术治疗,但手术治疗存在费用高、患者依从性差等问题。因此,研究者逐渐将目光转移至中医药领域。

中医药因其不良反应少,临床疗效佳等优势,受到越来越多研究者的青睐。而壮瑶医作为我国传统医药的一个重要组成部分,其用药大多采用本地药材,且在临床方面疗效显著,能降低医疗费用和提高人民生活质量。生骨汤是壮瑶医治疗 SANFH 的经典方,具有补益肝肾、益髓生骨等作用^[4]。其中主药扶芳藤和松兰补肝肾之亏虚,丢了棒和水田七消肿止痛、活血化痰;大叶千斤拔、红杜仲和鸡血藤为佐,行补虚健骨之疗效;四方藤调和药性、舒经活络。该方虽然被广泛应用于 SANFH 治疗,但其具体作用机制尚未明确,缺乏充分的循证依据。基于以上现状,本研究采用 Meta 分析联合网络药理学的方式,在综合评价壮瑶药生骨汤治疗 SANFH 疗效的同时,对其潜在的作用机制进行初步探索,为其临床提供更为可靠的循证依据,也为其后期的实验研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 Meta 分析

1.1.1 文献纳入标准 文献为国内外公开发表的随机对照试验;研究对象为 SANFH 患者;观察组为生骨汤或常规治疗+生骨汤,对照组为常规治疗;有明显的结局指标,且数据完整。

1.1.2 文献排除标准 文献重复发表;关键信息无法获得的文献;设计不严谨,文献不完整;纳入患者合并其他严重疾病,如恶性肿瘤、心血管疾病等;疗效评定标准不规范,治疗结果未完整公布。

1.1.3 相关指标 临床总有效率、综合疗效评分、空骨陷窝率。

1.1.4 文献检索策略 相关数据库:中国知网、维普、万方、中国生物医学文献数据库、PubMed、Cochrane Library、Embase、MEDLINE 以及 Web of Science。检索方式:根据各数据库检索情况,通过主题词联合自由词的方式进行检索。中文检索关键词为“生骨汤”“壮药”“瑶药”“激素性股骨头缺血性坏死”,英文检索关键词为“Shenggu Decoction”“Zhuang Medicine”“Yao Medicine”“steroid-induced avascular necrosis of femoral head”。

1.1.5 数据提取和文献质量评价 提取文献相关信息为题目、作者、单位、年份、干预措施、治疗疗程和观察指标等。采用 RevMan 5.3 软件对纳入文献进行质量评价,内容包括随机序列产生、分配隐藏、对

研究者或患者施加盲法、不完全结局数据、其他偏倚。评价结果分为“低风险”“不清楚风险”“高风险”。以上内容由两名专业人员独立汇总完成,当出现不同意见时再增加一名专业人员同组讨论后决定。

1.1.6 数据统计与分析 利用 RevMan 5.3 软件对纳入研究进行 Meta 分析,不能进行 Meta 分析的则进行描述性定性分析。二分类变量资料以 95%可信区间 (confidence interval, CI) 比值比 (odds ratio, OR) 表示,连续性变量资料以 95%CI 标准化均值差 (STD mean difference, SMD) 表示。显示异质时,即 $P < 0.1$, $I^2 \geq 50\%$, 采用随机效应模型;显示同质时,即 $P > 0.1$, $I^2 < 50\%$, 采用固定效应模型。

1.2 网络药理学

1.2.1 生骨汤活性成分及靶点获取 利用 TCMSP (<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)、BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 和中药与化学成分数据库 (http://www.chemcpd.csdb.cn/cmpref/main/tcm_introduce.asp) 以及查阅文献等方法收集生骨汤活性成分和相关靶点信息。TCMSP 数据库根据口服生物利用度 (oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 以及类药性 (drug-likeness, DL) ≥ 0.18 进行筛选,其他数据库和查阅文献获取到的活性成分则以 Lipinski 类药五原则^[5-6],即分子量 (MW) < 500 , 氢键供体数 (Hdon) < 5 , 氢键受体数 (Hacc) < 10 , 脂水分配系数 (AlogP) < 5 和旋转键 (RBN) < 10 对其进行筛选。通过 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索获得的生骨汤活性成分的结构式,未能搜索到的则收集其 2D 结构图,最后利用 Swiss TargetPrediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 进行靶点预测。

1.2.2 SANFH 靶点筛选预测 以“steroid-induced avascular necrosis of femoral head”为关键词,利用 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 对其相关靶点进行筛选。

1.2.3 共同靶点筛选 将两者靶点经 Venn Diagram 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 取交集,获取两者共同靶点并绘制韦恩图。

1.2.4 网络构建与分析 运用 Cytoscape 3.7.2 构建“中药-活性成分-共有靶点”网络图;将共同靶点导入 String 数据库 (<http://string-db.org/cgi/input.pl>),置信度得分设置为 > 0.9 , 隐藏游离蛋白进行参数分析,结果导出后再导入 Cytoscape 3.7.2 中构建蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图,运用 MCODE 插件筛选关键蛋白模块,参数设置:度

值=2,节点得分=0.2,最大深度=100。

1.2.5 GO、KEGG 富集分析 运用 DAVID 数据库 (<http://david.ncifcrf.gov>) 对导出数据进行 GO、KEGG 富集分析,GO 富集分析包括生物过程、分子功能和细胞组分;KEGG 富集分析则直观检测共有靶点涉及的通路分布情况;最后通过微生信网站 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 将 GO、KEGG 富集结果可视化。

1.2.6 分子对接 根据“1.2.4”分析结果,取关键活性成分与核心蛋白运用 AutoDock vina 1.1.2 软件进行分子对接。首先,在 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 搜索关键蛋白 3D 结构,使用 PyMOL 1.7.2.1 软件移除关键蛋白中非蛋白分子和配体;通过 PubChem 数据库下载活性成分结构并进行优化。使用 AutoDock vina 1.1.2 软件进行定位、残基修补、水分子去除、添加氢原子和电荷并保存。以原配体所在位点作为关键蛋白活性口袋进行分子对接,最后通过 PyMOL 1.7.2.1 软件对结果进行可视化。

2 结果

2.1 Meta 分析结果

2.1.1 文献检索结果 初步检索得到中文文献 3584 篇和英文文献 865 篇,通过阅读题目和查重后,剔除 4434 篇,剩中文文献 15 篇和英文文献 0 篇,根据纳入标准与排除标准进行阅读评估和剔除后,最终纳入文献 5 篇^[7-11]。

2.1.2 纳入文献基本特征 纳入 5 篇文献均为中文文献,共计 5 项研究和 394 例样本,其中试验组 199 例和对照组 195 例,试验组干预措施均为生骨汤,对照组干预措施均为常规治疗药物。见表 1。

2.1.3 纳入文献偏倚分析评估 本次研究纳入文献均提及“随机”字样,其中 2 篇文献^[7,11]采用随机数字表法,评定为低风险,剩余 3 篇文献^[8-10]只描述为随机,未明确随机序列产生方法,故评定为不清楚风险;本次研究纳入文献均未提及分配隐藏及盲法,故评定为不清楚风险;所有纳入文献均有明确结局指标,故评定为低风险;所有纳入文献均未发现重复发表或发表偏倚,评定为低风险;其他偏倚均未知,故评定为不清楚风险。见图 1。

2.1.4 疗效评价分析 (1) 临床总有效率:纳入的 5 篇文献^[7-11]均提及临床总有效率,结果提示各研究间具有同质性 ($P = 0.79$, $I^2 = 0\%$), 选择固定效应模型, $OR = 4.38$ (95%CI 2.15~8.89, $P < 0.000\ 01$), 提示生骨汤优于仙灵骨葆胶囊,两者差异具有统计学意义。见

表1 纳入研究的数据特征

序号	纳入研究	研究样本/例[n(T/C)]	疗程	干预措施		结局指标
				试验组	对照组	
1	张建军 ^[7] 2020	80(40/40)	3个月	生骨汤	仙灵骨葆胶囊	①②③
2	李岩 ^[8] 2020	70(35/35)	3个月	生骨汤	仙灵骨葆胶囊	①②
3	黄汉春 ^[9] 2017	120(60/60)	3个月	生骨汤	仙灵骨葆胶囊	①③
4	秦淑红 ^[10] 2017	60(30/30)	3个月	生骨汤	仙灵骨葆胶囊	①②
5	廖小波等 ^[11] 2016	64(34/30)	3个月	生骨汤	仙灵骨葆胶囊	①②

注:①临床总有效率;②综合疗效评分;③空骨陷窝概率

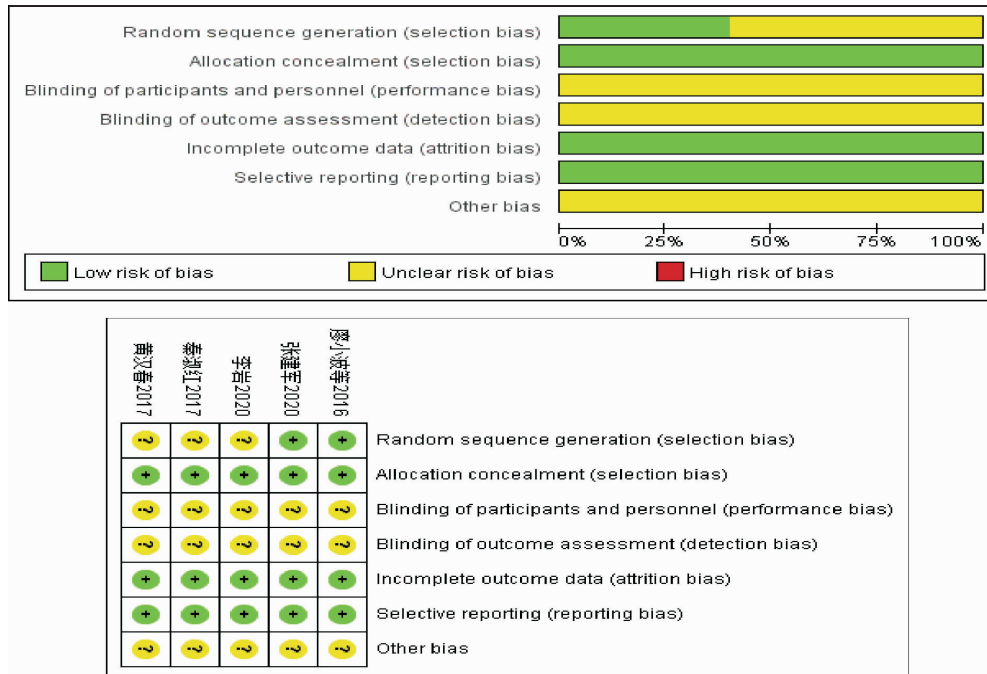


图1 纳入研究偏倚风险评估图

图2a。

(2)综合疗效评分:纳入的5篇文献中4篇^[7-8,10-11]提及综合疗效评分,结果提示各研究间具有同质性($P=0.57, I^2=0\%$),选择固定效应模型, $SMD=3.89$ ($95\%CI$ 3.48~4.30, $P<0.000\ 01$),提示生骨汤优于仙灵骨葆胶囊,两者差异具有统计学意义。见图2b。

(3)空骨陷窝率:纳入的5篇文献中2篇^[7,9]提及空骨陷窝率,结果提示各研究间具有同质性($P=0.90, I^2=0\%$),选择固定效应模型, $OR=0.16$ ($95\%CI$ 0.05~0.58, $P=0.005$),提示生骨汤优于仙灵骨葆胶囊,两者差异具有统计学意义。见图2c。

2.1.5 发表偏倚 绘制漏斗图对生骨汤和仙灵骨葆胶囊在提高总有效率方面进行偏倚分析,如图所示,漏斗图各散点呈不完全对称,说明存在发表偏倚的可能性。见图3。

2.2 网络药理学结果

2.2.1 药物成分及相关靶点筛选 通过数据库和查阅文献,共得到生骨汤活性成分40个,活性成分靶点630个。

2.2.2 疾病靶点筛选 结果汇总后共得到 SANFH 相关靶点505个。

2.2.3 潜在靶点预测结果 经 Venn Diagram 网站得到共同靶点94个。见图4a。

2.2.4 网络构建与结果分析 “中药-活性成分-共同靶点”网络图见图4b,通过 Network Analyzer 工具分析网络中节点的度值。度值排前5位的靶点为鸡肉瘤病毒基因(sarcoma gene, SRC)、血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)、纤溶酶原(plasminogen, PLG)、丝裂原激活蛋白激酶14(mitogen-activated protein kinase 14, MAPK14);排前5位的成分为木犀草素(luteolin)、去甲汉黄芩素(norwogonin)、牵牛花色素(petunidin)、2'-羟基染料木素(2'-hydroxygenistein)、染料木素(genistein),具体活性成分信息见表2。将共同靶点导入String数据库进行参数分析后,剩余83个核心蛋白,导出结果后接着导入 Cytoscape 3.7.2 中构建PPI图,见图4c,并通过 Network Analyzer 工具和 MCODE

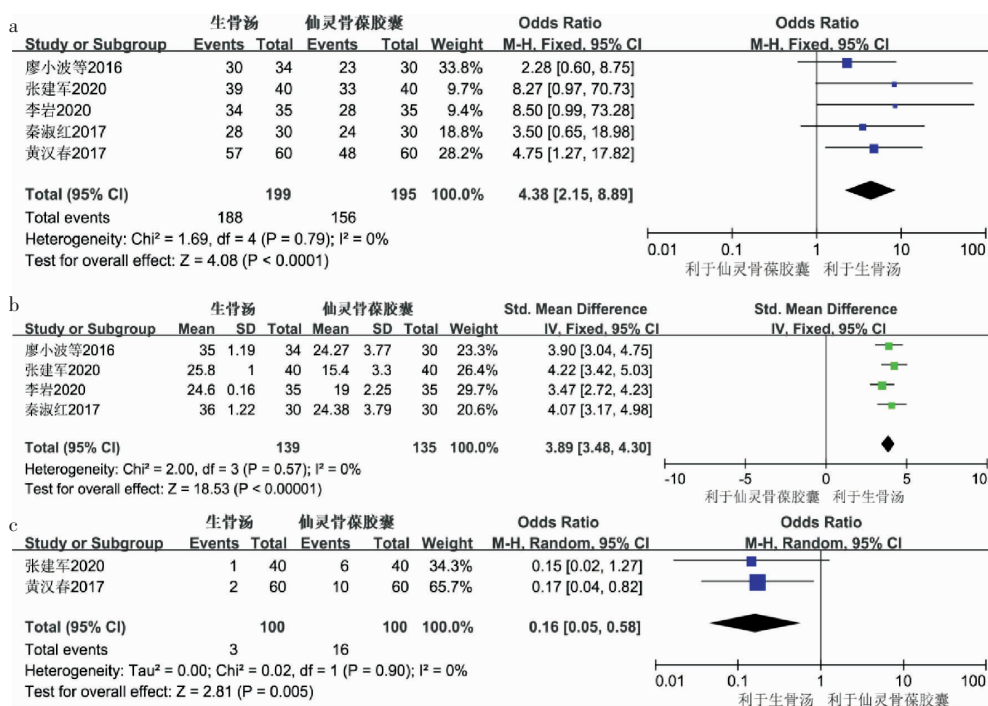


图2 试验组与对照组的相关指标森林图

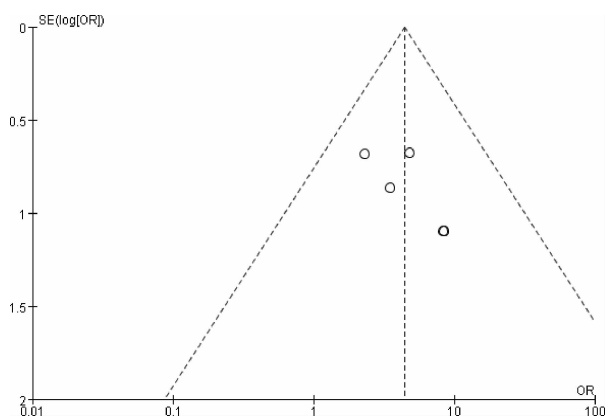


图3 总有效率发表偏倚分析漏斗

插件筛选关键蛋白模块,得到2个关键蛋白模块,模块1评分为7.714,模块2评分为4.333,具体情况见图4d。

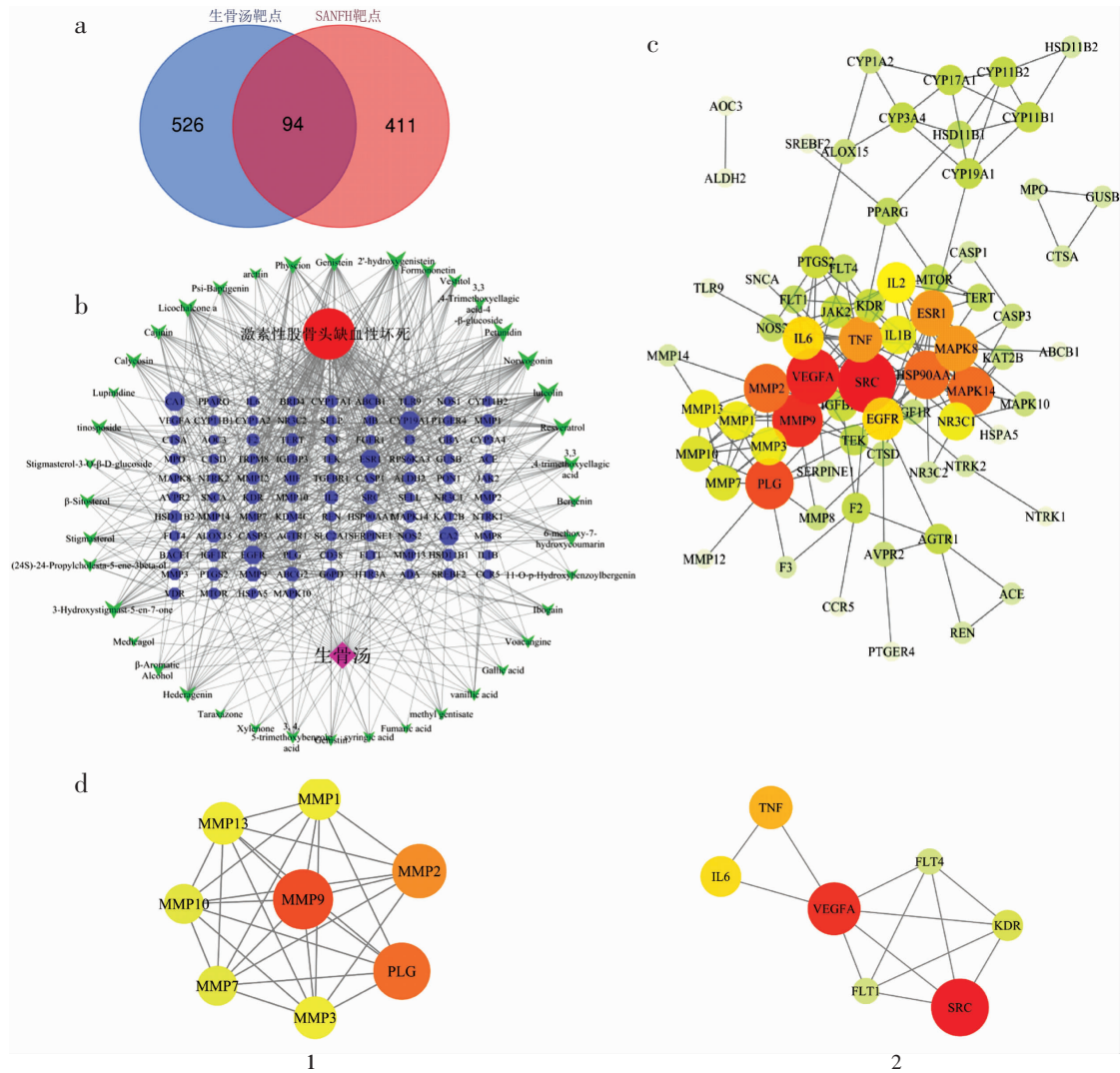
2.2.5 GO、KEGG 富集分析 将83个核心靶点上传至DAVID数据库,进行GO、KEGG富集分析。GO富集分析共得到431个条目,其中细胞组分34个,生物过程307个,分子功能90个,显示生骨汤治疗SANFH主要与蛋白水解、信号传导、胶原分解代谢过程等生物过程及蛋白质结合、ATP结合、锌离子结合等分子功能密切相关,其过程涉及质膜、细胞外区域、细胞外泌体等细胞组分,见图5。KEGG富集分析共得到73条通路,具体分布见图6,排除与SANFH联系不够密切的通路,筛选出磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)、低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)、丝裂原激活蛋白激

酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等相关主要信号通路。

2.2.6 分子对接结果 根据“2.2.4”分析结果,分别取度值前5位的活性成分以及核心蛋白进行分子对接,并取结合能最低者进行可视化,见表3、图7,结果显示,关键活性成分与核心蛋白的结合能均 ≤ -5.0 kJ/mol^[12],且多数嵌入核心靶点活性口袋的疏水区,结合模式多以 $\pi-\pi$ 作用和氢键为主,提示具有较好结合活性,其中染料木素能与MMP9上的LEU-188、LEU-222、LEU-243、ALA-189、VAL-223以及MIS-226残基结合。

3 讨论

近年来,随着糖皮质激素的广泛应用,SANFH的发病率也在逐年升高,其占比率在非创伤性股骨头坏死中高达51%^[13-14],已成为临床上较为棘手的骨科疾病。SANFH的发病机制较为复杂,其中股骨头血液循环中断是目前最普遍认可的发病机制。目前,西药多采用增加纤溶、扩张血管、抗凝与降脂药物联合使用,或将增加成骨与抑制破骨药物联合使用^[15]。西药治疗通常只涉及一种或几种作用机制,治疗效果不稳定。中医治疗则以整体观为指导,强调早期诊断、早期治疗以及病证结合,以求髓关节局部和整体稳定^[16]。在患者不同时期均需采用一定的补肾健骨中药治疗^[17-19],而生骨汤是壮瑶医治疗SANFH的经验方,具有补益肝肾、益髓生骨、舒筋活络、活



注:a为韦恩图;b为“中药-活性成分-共同靶点”网络图,图中红色圆形为疾病,粉色菱形为生骨汤,蓝色六边形为共有靶点,绿色三角箭头为活性成分,各形状大小与度值成正比;c为PPI图,图中圆点表示为共有靶点,圆点越大、颜色越红越深代表该节点与其他节点联系越密切,圆点越小、颜色越绿越淡代表该节点与其他节点联系越疏远;d为关键蛋白模块图,1、2分别为模块1、模块2

图4 生骨汤治疗激素性股骨头缺血性坏死的靶点图

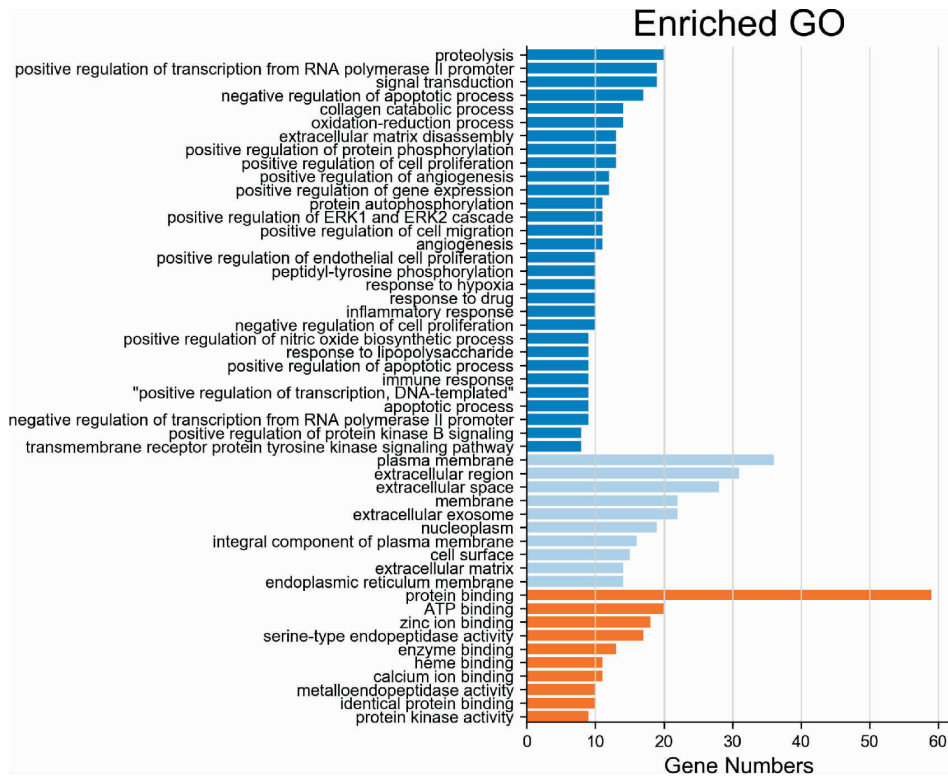
表2 关键活性成分信息表

PubChem ID	活性成分	度值	来源	筛选依据
5280445	木犀草素	26	扶芳藤、鸡血藤	OB≥30%, DL≥0.18
5281674	去甲汉黄芩素	24	扶芳藤	OB≥30%, DL≥0.18
441774	牵牛花色素	23	鸡血藤	Lipinski 类药五原则
5282074	2'-羟基染料木素	23	大叶千斤拔	Lipinski 类药五原则
5280961	染料木素	21	大叶千斤拔	Lipinski 类药五原则

血化瘀的作用,且疗效显著^[7-11]。而本次 Meta 分析结果显示,与常规用药仙灵骨葆胶囊相比,生骨汤的疗效更好,可显著提高总有效率、综合疗效评分,并降低患者的空骨陷窝率。

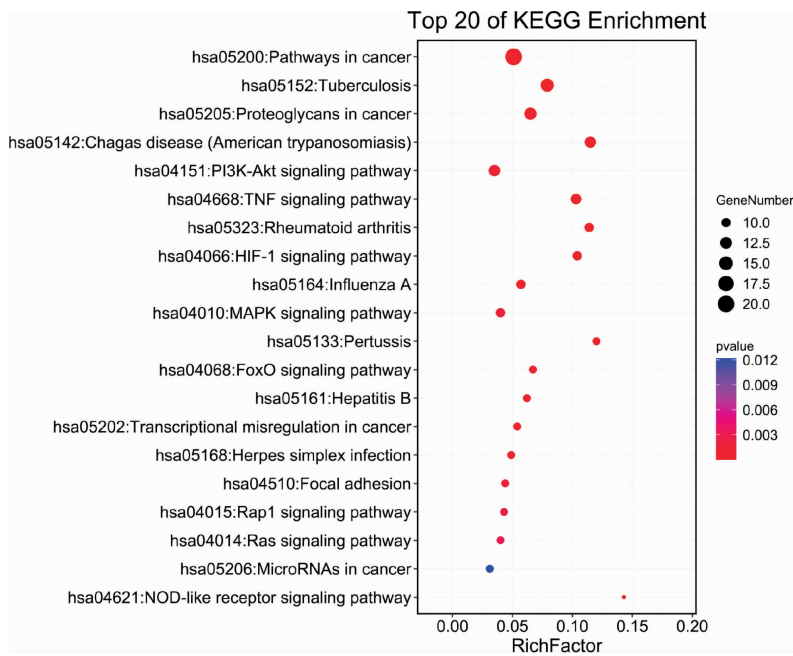
基于 Meta 分析结果,本次研究进一步通过网络药理学对生骨汤治疗 SANFH 的潜在作用机制进行初步探索,发现木犀草素、去甲汉黄芩素、牵牛花色

素、2'-羟基染料木素、染料木素为关键成分。木犀草素是一种黄酮类化合物,具有抗炎以及调节免疫的作用^[20]。相关研究显示^[21],木犀草素能通过 STAT1/Caspase-3 信号通路抑制去脱氧诱导的成骨凋亡激活。染料木素主要来源于广豆根和金雀花等一些豆科植物,具有提取率高、成本低等特点^[22]。而相关实验显示^[23],染料木素可通过旁分泌刺激成骨细胞增



注:横坐标代表富集基因个数,纵坐标代表 GO 富集分析名称,其中深蓝色代表生物过程、浅蓝色代表细胞组分、黄色代表分子功能

图 5 GO 功能富集分析图

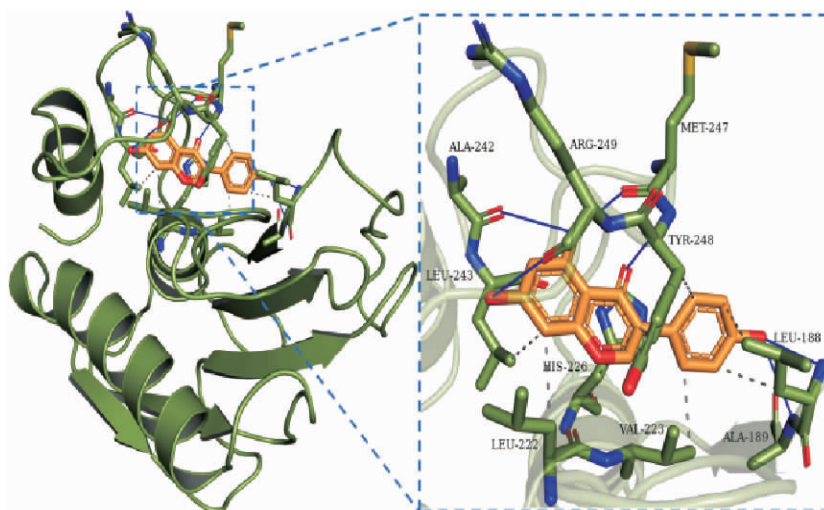


注:横坐标代表通路富集基因占人体总基因的比率,气泡大小与富集基因数成正比,气泡颜色越红,代表富集程度越显著、可信度越高

图 6 KEGG 信号通路气泡图(前 20)

表 3 关键活性分子与核心蛋白的结合能(kJ/mol)

基因	木犀草素	去甲汉黄芩素	牵牛花色素	2'-羟基染料木素	染料木素
SRC	-35.58	-33.49	-35.58	-33.91	-34.74
VEGFA	-34.32	-35.16	-26.37	-36.00	-36.42
MMP9	-43.53	-40.18	-37.67	-43.11	-45.21
PLG	-33.91	-32.23	-33.07	-32.65	-31.81
MAPK14	-30.98	-31.81	-30.56	-30.98	-29.30



注:绿色结构为蛋白,黄色结构为活性成分配体,蓝色实线代表氢键,灰色虚线代表 π - π 作用

图7 MMP9与染料木素分子对接展示图

殖、分化,进而增强骨保护素蛋白质分泌以及 mRNA 表达。

此外,本次研究还发现生骨汤治疗 SANFH 的核心靶点为 SRC、VEGFA、MMP9、PLG、MAPK14。PLG 是纤溶系统的重要组成部分之一,激活后具有溶解血栓并抑制凝血的作用。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是参与降解全身各种组织细胞外基质的蛋白酶家族,其中 MMP2、MMP9 在破骨细胞中大量表达,降解骨基质相关有机物^[24]。VEGFA 是 VEGF 家族中常见的一位成员,具有促进新生血管生成的作用^[25]。VEGF 与其激酶结构域受体(Flt-1、Flt-4、KDR)特异性结合后,增加相关静脉通透性来促进营养物质以及炎性物质渗出。而 SRC 是 Src 激酶家族的成员之一,近期有相关研究表明^[26],LPS 通过 TLR4 通路触发信号分子 Src/Syk 磷酸化,激活 NF- κ B 和 AP-1 信号通路,从而影响炎性因子表达。血管发生炎症反应会导致组织肿胀引起骨内压升高,而骨内压升高是 SANFH 的一个重要病因。综上所述,生骨汤治疗 SANFH 主要是通过调节新生血管生成、凝血系统以及骨吸收等相关途径。

另外,本次研究发现,PI3K/Akt、HIF-1、MAPK 等相关通路为生骨汤治疗 SANFH 密切相关。PI3K/Akt 通路主要参与细胞增殖、凋亡和分化^[27]。Zou 等^[28]研究发现缺氧条件下,小鼠成骨细胞中 PI3K-Akt 信号通路受到抑制,最终导致成骨细胞凋亡。Liu 等^[29]研究发现,人多能干细胞分泌物可通过激活 PI3K/Akt 通路增强股骨头内血管内皮细胞的成血管能力,维持股骨头血供。HIF-1 α 信号通路在缺血/低氧环境下,对血管生成和骨形成起着十分重要的

调节作用。相关研究表明低氧情况下,稳定表达的 HIF-1 α 蛋白能增高 VEGF 的表达来促进血管生成^[30]。Zhang 等^[31]研究也证实了在低氧环境下,软骨细胞 HIF-1 α 、VEGF 表达均升高,诱导血管生成来为骨生成带来氧分和营养物质。MAPK 通路在细胞生长及细胞信息交流过程中起到十分重要的作用,其中 p38-MAPK、ERK 信号通路调控细胞凋亡,从而影响 SANFH。p38 通过磷酸化 p53,影响活性氧簇在线粒体中的产生,将氧化应激信号转化为凋亡信号以促进成骨细胞凋亡^[32]。而 ERK 通路,则具有调节成骨细胞分化增殖的作用,该通路被激活后,RUNX2、I 型胶原以及碱性磷酸酶表达水平会增高,从而促进成骨细胞增殖^[33]。

本次研究不足之处:(1)纳入文献只有 5 篇,且质量有所欠缺;(2)纳入文献均为国内研究;(3)网络药理学研究未将分析结果与成分含量相联系,后续研究应将两者关系考虑在内进行分析;(4)此次研究搜索到松兰、丢了棒的相关活性成分均未满足筛选条件,望后续能完善相关成分研究。

本次研究运用 Meta 分析和网络药理学进行综合分析,结果表明,生骨汤可显著提高 SANFH 患者临床总有效率、综合疗效评分,并降低其空骨陷窝率;而生骨汤主要是通过诱导调控相关靶点和信号通路,调节新生血管生成、凝血系统以及骨细胞的增殖、凋亡、分化来发挥治疗作用。本研究一定程度上为壮瑶药生骨汤治疗 SANFH 提供了较为科学的循证依据,并分析了其内在机制,这为传统医学与现代医学研究相结合提供了理论依据,也为今后临床相关问题的研究提供了系统的研究思维与模式。

参考文献

- [1] 中国医师协会骨科医师分会显微修复工作委员会, 中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组, 中华医学会骨科分会显微修复学组. 成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(15): 945-954.
- [2] 曾宪峰, 王进东, 梁鼎天, 等. 补肾活血汤联合西医治疗早中期非创伤性股骨头缺血坏死(肾虚血瘀)随机平行对照研究[J]. 实用中医内科杂志, 2019, 33(5): 38-41.
- [3] FANG S H, LI Y F, JIANG J R, et al. Relationship of $\alpha 2$ -macroglobulin with steroid-induced femoral head necrosis: A Chinese population-based association study in southeast China[J]. *Orthopaedic Surgery*, 2019, 11(3): 481-486.
- [4] 何凯毅, 易生辉, 秦刚, 等. 生骨汤联合改良髓芯减压植骨术治疗早期股骨头坏死的临床效果[J]. 中国医药导报, 2017, 14(27): 97-100.
- [5] GIMÉNEZ B G, SANTOS M S, FERRARINI M, et al. Evaluation of blockbuster drugs under the rule-of-five[J]. *Die Pharmazie*, 2010, 65(2): 148-152.
- [6] LIPINSKI C A. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2016, 101: 34-41.
- [7] 张建军. 壮药生骨汤治疗早期激素性股骨头缺血性坏死的临床观察[J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(6): 3-4.
- [8] 李岩. 壮药生骨汤治疗激素性股骨头坏死的临床效果[J]. 中国民族医药杂志, 2020, 26(4): 11-12.
- [9] 黄汉春. 壮药生骨汤治疗早期激素性股骨头缺血性坏死的临床效果[J]. 临床医药文献电子杂志, 2017, 4(11): 2150-2151.
- [10] 秦淑红. 观察壮药生骨汤治疗激素性股骨头坏死的临床效果[J]. 内蒙古中医药, 2017, 36(14): 4-5.
- [11] 廖小波, 廖恒, 曾平, 等. 壮药生骨汤治疗早期激素性股骨头缺血性坏死的临床观察[J]. 广西医学, 2016, 38(5): 705-706.
- [12] 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.
- [13] GÓMEZ-MONT LANDERRECHE J G, GIL-ORBEZO F, MORALES-DOMINGUEZ H, et al. Nontraumatic causes of bilateral avascular necrosis of the femoral head: Link between hepatitis C and pegylated interferon[J]. *Acta Ortopedica Mexicana*, 2015, 29(3): 172-175.
- [14] CHAO P C, CUI M Y, LI X A, et al. Correlation between miR-1207-5p expression with steroid-induced necrosis of femoral head and VEGF expression[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(7): 2710-2718.
- [15] 中国医师协会骨科医师分会骨循环与骨坏死专业委员会, 中华医学会骨科分会骨显微修复学组, 国际骨循环学会中国区. 中国成人股骨头坏死临床诊疗指南(2020)[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(20): 1365-1376.
- [16] 何伟. 精确诊断前提下股骨头坏死非手术治疗实践[J]. 临床外科杂志, 2017, 25(8): 580-582.
- [17] FANG B, LI Y, CHEN C, et al. *Huo Xue Tong Luo* capsule ameliorates osteonecrosis of femoral head through inhibiting lncRNA-miat[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2019, 238: 111862.
- [18] XI H B, TAO W J, JIAN Z G, et al. Levodopa attenuates cellular apoptosis in steroid-associated necrosis of the femoral head[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 13(1): 69-74.
- [19] 何伟. 科学看待中医药治疗非创伤性股骨头坏死[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2013, 7(3): 284-286.
- [20] 李惠香, 张倩, 柳亚男, 等. 木犀草素与木犀草苷的抗炎活性对比研究[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2018, 31(2): 114-120.
- [21] YAN Z J, ZHAN J D, QI W H, et al. The protective effect of luteolin in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 1195.
- [22] 朱文清, 邹娜, 杨亚东, 等. 染料木素对骨代谢和脂代谢的研究新进展[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(8): 978-981.
- [23] CHANG H, JIN T Y, JIN W F, et al. Modulation of isoflavones on bone-nodule formation in rat Calvaria osteoblasts in vitro[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2003, 16(1): 83-89.
- [24] 王建忠, 武永刚, 董慧珍. 阿托伐他汀对糖皮质激素性股骨头坏死骨组织 MMP/TIMP 系统的影响[J]. 中国骨与关节杂志, 2014, 3(11): 865-870.
- [25] CASTAÑEDA-CABRAL J L, BEAS-ZÁRATE C, ROCHA-ARRIETA L L, et al. Increased protein expression of VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C and their receptors in the temporal neocortex of pharmacoresistant temporal lobe epilepsy patients[J]. *Journal of Neuroimmunology*, 2019, 328: 68-72.
- [26] KIM J H, PARK J G, HONG Y H, et al. *Sauropus brevipes* ethanol extract negatively regulates inflammatory responses in vivo and in vitro by targeting Src, Syk and IRAK1[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2021, 59(1): 74-86.
- [27] YU J S L, CUI W. Proliferation, survival and metabolism: The role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination[J]. *Development*, 2016, 143(17): 3050-3060.
- [28] ZOU W J, YANG S, ZHANG T, et al. Hypoxia enhances glucocorticoid-induced apoptosis and cell cycle arrest via the PI3K/Akt signaling pathway in osteoblastic cells[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2015, 33(6): 615-624.
- [29] LIU X L, LI Q, NIU X, et al. Exosomes secreted from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2017, 13(2): 232-244.
- [30] SEMENZA G L. Regulation of cancer cell metabolism by hypoxia-inducible factor 1[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2009, 19(1): 12-16.
- [31] ZHANG C, LI Y, CORNELIA R, et al. Regulation of VEGF expression by HIF-1 α in the femoral head cartilage following ischemia osteonecrosis[J]. *Scientific Reports*, 2012, 2: 650.
- [32] ZHANG C, ZOU Y L, MA J, et al. Apoptosis associated with Wnt/ β -catenin pathway leads to steroid-induced avascular necrosis of femoral head[J]. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2015, 16: 132.
- [33] 丁道芳, 李玲慧, 宋奕, 等. MAPK-ERK1/2 信号通路调控成骨性基因表达和细胞增殖[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(10): 1432-1436.