

淫羊藿治疗股骨头坏死的分子机制分析

梁学振, 许波, 李刚*, 骆帝, 盖帅帅, 阎博昭, 李嘉程, 夏聪敏
(山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] **目的:**基于网络药理学和生物信息学研究淫羊藿治疗股骨头坏死可能的分子机制。**方法:**通过中药系统药理学数据库和分析平台对淫羊藿可能的活性成分和靶点进行筛选和预测,针对TTD, DrugBank, OMIM, GAD, PharmGKB等数据库与股骨头坏死相关的作用靶点进行挖掘,结合生物信息学手段,明确淫羊藿防治股骨头坏死的特异性靶点,采用ClueGO进行信号通路富集分析,以进一步分析其可能的分子机制。**结果:**在中药系统药理学数据库和分析平台中共检索出与淫羊藿相关成分130个,根据口服生物利用度(OB)和药物相似性(DL)参数筛选获得入血活性成分23个,利用相关靶点预测技术预测可能的靶点102个;通过上述疾病基因相关数据库共检索到与股骨头坏死发生,发展密切相关的已知靶点72个。利用Cytoscape软件构建活性成分及疾病的蛋白质-蛋白质相互作用关系网络图,合并网络图并行拓扑分析筛选出关键基因135个;采用ClueGO信号通路富集分析显示,淫羊藿作用于股骨头坏死的关键节点涉及的信号通路主要被富集在细胞增殖、细胞凋亡、炎症、应激及癌症相关等80条信号通路。**结论:**淫羊藿治疗股骨头坏死具有多成分,多靶点的特点;其主要通路不仅直接参与骨重建的细胞增殖、凋亡及分化,调节成骨、破骨代谢平衡,还通过调节免疫、炎症及应激反应等干预和影响骨微环境以达到控制疾病发生发展的目的,与目前治疗股骨头坏死的作用机制相符合。

[关键词] 淫羊藿; 股骨头坏死; 网络药理学; 生物信息学; 分子机制; 信号通路

[中图分类号] R22;R24;R285.5;R274 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)14-0188-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180839

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180123.1525.009.html>

[网络出版时间] 2018-01-24 17:05

Molecular Mechanism of Epimedii Folium in Treating Osteonecrosis of Femeral Head

LIANG Xue-zhen, XU Bo, LI Gang*, LUO Di, GAI Shuai-shuai, YAN Bo-zhao, LI Jia-cheng, XIA Cong-min
(Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the potential molecular mechanism of Epimedii Folium in the treatment of osteonecrosis of femeral head based on the network pharmacology and bioinformatics. **Method:** The method of network pharmacology was used to determine and screen out the potential compounds of Epimedii Folium through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, and predict the drug-related gene/protein targets by means of such databases as TTD and DrugBank, OMIM, GAD and PharmGKB. Bioinformatic method was used to determine the specific target of Epimedii Folium in prevention and treatment of osteonecrosis of femeral head. ClueGO was applied in the signal pathway enrichment analysis to further analyze the molecular mechanism of Epimedii Folium in treatment of osteonecrosis of femeral head. **Result:** The 130 compounds related to Epimedii Folium were retrieved in the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform. According to the parameters of oral bioavailability (OB) and drug-likeness (DL), a total of 23 blood transfusion components were screened out, and 102 targets were predicted by using the relevant target prediction technique. A total of 72 known targets closely related to the development of

[收稿日期] 20171111(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81774333,81373660);山东省重点研发计划项目(2016GSF202022)

[第一作者] 梁学振,在读博士,从事骨与关节疾病研究,E-mail:liangxz0429@163.com

[通信作者] *李刚,博士,教授,博士生导师,从事骨与关节疾病研究,Tel:0531-68617088,E-mail:doctorlee808@163.com

osteonecrosis of femoral head were retrieved in the disease-related databases. Cytoscape software was used to construct and synthesize the protein-protein interaction network of active ingredients and diseases, and 135 key genes were screened out by the network topological analysis. ClueGO analysis showed that the key signaling pathways involving the effect of *Epimedii Folium* on osteonecrosis of femoral head were mainly enriched in 80 signaling pathways, such as cell proliferation, apoptosis, inflammation, stress and cancer related signaling pathways. **Conclusion:** *Epimedii Folium* has the characteristics of multiple targets and multicomponents in the treatment of osteonecrosis of femoral head. Its main pathways not only directly participate in the cell proliferation, apoptosis and differentiation and the regulation of the balance of osteogenesis and osteoclasts, but also interfere and affect the bone microenvironment by regulating immunity, inflammation and stress, so as to control the occurrence and development of diseases. This is consistent with the current mechanism in treating the osteonecrosis of femoral head.

[**Key words**] *Epimedii Folium*; osteonecrosis of femoral head; network pharmacology; bioinformatics; molecular mechanism; signaling pathway

近年来,股骨头坏死(osteonecrosis of femoral head, ONFH)发病率不断增高,又因其致残率高、治疗困难,越来越引起医学界的重视。既往研究表明^[1],日本每年有 2 500 ~ 3 000 例新发病例,美国为 1.5 万 ~ 2 万,而我国为 10 万 ~ 20 万。ONFH 病程长,且发病年龄趋于年轻化^[2],如未经有效治疗,约 80% 的患者在 1 ~ 4 年内会发展到股骨头塌陷而使关节功能受限^[3],严重影响患者健康及生活质量。目前,治疗 ONFH 的公认药物^[4]主要包括调节破骨细胞功能的二膦酸盐类(如阿仑膦酸钠),调节脂类代谢异常药物(如阿托伐他汀),调节出凝血功能药物(如肝素),参与氧化应激类药物(如维生素 E),参与骨代谢药物[如 1,25-(OH)₂-D₃,维生素 K]等。但从药物相关疗效来看,上述药物仅局限于临床症状的改善和病情进展的延缓,难以重新恢复骨重建和骨破坏的平衡状态而发挥稳定或逆转病情的作用;同时,药物靶向性过于单一,因此亟需寻找新的思路解决这一问题。传统中药针对患者个体情况、发病机制和具体表现的差异根据中医证候遣方用药而发挥一定程度的功效,一方面抑制了本病的发生与发展,另一方面促进了骨组织修复。现代药理学研究发现^[5],此类中药具有提高机体免疫功能,调节体内激素水平,刺激成骨细胞增殖、分化和成熟,抑制破骨细胞生长,促进骨形成等综合功效。说明中药及其复方在防治 ONFH 方面具有独特优势和广阔发展前景。

本课题组多年来致力于早中期 ONFH 防治的中医及中西医结合治疗^[6-24],在中医辨证治疗方面积累了丰富的临床经验,形成以“肾主骨生髓”为组方原则,“补肾健骨”为治疗原则的临证思路,以淫

羊藿为主进行辨证施治,取得了良好的临床疗效。淫羊藿是中医临床治疗 ONFH 常用药物,具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效。研究证实^[25-26],淫羊藿对于 ONFH 具有较好的疗效,能够明显改善其症状,延缓甚至逆转其进程,但其药效物质基础和分子机制至今尚不明确。因此,分析淫羊藿的有效活性成分,探讨其可能的作用机制,对于淫羊藿的科学内涵的阐述和临床应用的推广具有重要意义。但目前现有的研究手段在针对中药研究方面仍存在检测灵敏度低、可靠评价指标少等问题,故难以科学、有效、全面地阐释中药的作用机制。

随着网络药理学和生物信息学理论的建立,为研究中药潜在活性成分和作用靶点提供了有效的研究策略。本文通过筛选和预测淫羊藿和 ONFH 中符合要求已报道的相关靶点,并对靶点进行富集分析,探讨其可能的作用机制。流程图见图 1。

1 方法

1.1 淫羊藿入血活性成分筛选 通过检索中药系统药理学数据库和分析平台^[27](Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)挖掘淫羊藿所有成分数据,根据成分毒药物动力学(absorption and distribution and metabolism and excretion, ADME)参数^[28-30]进行筛选,其中筛选条件^[31]为药物口服生物利用度(oral bioavailability, OB) ≥ 30%,药物相似性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18;同时,结合前期研究结果及跟踪文献对入血活性成分进行完善。

1.2 淫羊藿作用靶点预测及“活性成分-靶点网络”构建 通过 TCMSP 靶点预测模型预测上述入血活性成分的作用靶点,采用网络图像化软件 Cytoscape

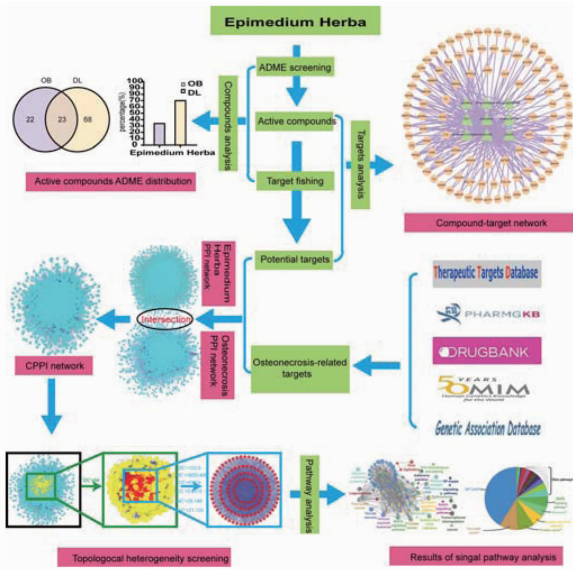


图 1 淫羊藿治疗股骨头坏死的分子机制分析流程
Fig.1 Molecular mechanism analysis flow chart of Epimedii Folium in treatment of osteonecrosis of femoral head

3. 2. 1^[32]对活性成分及作用靶点进行相关网络构建,用“节点”(node)表示分子、靶蛋白,用“边”(edge)表示成分与靶点之间的关系;其中,Cytoscape是一款基于 Java 开发的本地网络可视化分析工具,具有整合高度复杂的分子间相互作用网络和其他分子状态信息的作用而被广泛应用于系统生物学及生物复制网络分析,同时此软件不仅可以支持多种网络描述格式,而且支撑第三方插件扩展程序而进一步发挥深入分析的优势。

采用 network analyzer 插件对活性成分-靶点网络进行特征分析,以明确淫羊藿中潜在的有活性的分子成分和靶点,结合文献分析其中的相互作用;其中,network analyzer 插件是 Cytoscape 软件中的一个第三方插件,可以有效地计算网络拓扑参数,包括网络的直径,平均邻居数和连接对节点数,也可以计算更复杂的网络参数的分布,如节点度,平均聚类系数,拓扑系数和最短路径长度等。

1.3 已知的 ONFH 相关疾病靶点检索 通过 TTD^[33] (<http://bidd.nus.edu.sg/BIDD-Databases/TTD/TTD.asp>), DrugBank^[34] (<https://www.drugbank.ca/>), OMIM^[35] (<http://www.omim.org/>), GAD^[36] (<https://geneticassociationdb.nih.gov/>), PharmGKB^[37] (<https://www.pharmgkb.org/>) 等与疾病靶点相关的数据库以“osteonecrosis”作为关键词对已知的 ONFH 疾病相关靶点进行检索及筛选,即获得 ONFH 发病过程已知的靶点。

1.4 蛋白质-蛋白质相互关系网络构建和关键靶点

筛选 机体的内在调控往往是复杂的调控网络,而不是单一的信号通路支配的;不同的信号通路和靶点之间会存在一定程度的信号转导,故药物的治疗作用除表现为成分靶点的直接结合外,更多见于直接调控靶点与间接调控其他靶点相结合的调控方式。而蛋白质-蛋白质相互作用关系 (protein-protein interaction, PPI) 数据的构建与挖掘为寻找靶点的直接、间接调控作用关系提供了可能。通过 BisoGenet 插件对上述获得的入血活性成分及疾病靶点进行 PPI 网络绘制,其中 BisoGenet 是由 Biological General Repository for Interaction Datasets (BioGRID), Biomolecular Interaction Network Database (BIND), Molecular Interaction Database (MINT), Human Protein Reference Database (HPRD), Database of Interacting Proteins (DIP) 和 Biological General Repository for Interaction Datasets (GRID) 等 6 种蛋白质相互作用关系数据库构成的。同时,采用 Cytoscape 对上述绘制的 2 个网络图抽取交集网络,即可获得淫羊藿治疗 ONFH 的直接和间接靶点调控网络图。

通过网络拓扑分析插件 CytoNCA^[38] 并结合相关文献,借助度中心性 (degree centrality, DC), 介度中心性 (betweenness centrality, BC), 接近中心性 (closeness centrality, CC), 特征向量中心性 (eigenvector centrality, EC), 网络中心性 (network centrality, NC) 和局部边连通性 (local average connectivity, LAC) 等指标进行筛选,其中 DC 值大于所有节点 DC 值中位数 2 倍的节点为网络中的重要节点,即“Big hubs”;然后,再筛选其他几个指标大于所有节点中位数的节点,即关键靶点,以尽可能在网络中获得更多节点的传递信息和更高的节点信息传递效率,充分发挥其在网络中重要的作用。

1.5 Pathway 富集分析 通过基因富集分析插件 ClueGO^[39] 对上述获得的关键靶点进行信号通路富集分析,以节点的形式将结果以图像化形式展现,同时根据重要程度绘制信号通路占比饼状图,以分析关键靶点参与的主要信号通路,研究淫羊藿治疗 ONFH 可能的作用机制。其中,同一种颜色的节点代表同一类型的信号通路,节点的大小代表信号通路的显著性,节点越大信号通路的显著性越高,说明该通路的重要性越高。

2 结果

2.1 淫羊藿活性成分筛选与 ADME 分析 通过 TCMS 数据库共检索到淫羊藿已报道所有的成分

130 个,根据 OB 和 DL 等 ADME 参数筛选到入血活性成分 23 个,其筛选的成分分布图见图 2。

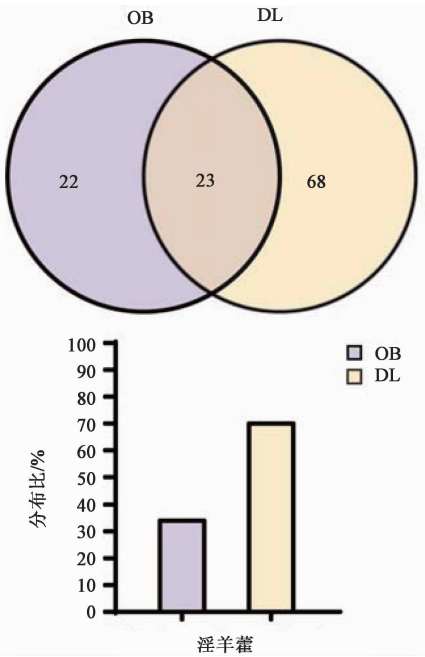


图 2 根据 ADME 参数筛选出的淫羊藿入血活性成分分布
Fig.2 ADME parameters distribution of active ingredients of blood entering blood in Epimedii Folium

2.2 淫羊藿作用靶点预测及“活性成分-靶点网络”构建分析 利用 TCMSPP 靶点预测模型预测技术对上述活性成分进行作用靶点预测,排除重复靶点,共获得预测靶点 102 个;利用 Cytoscape 对上述入血活性成分及预测的作用靶点进行关系网络的绘制和分析可知,淫羊藿发挥重要作用的入血活性成分与对应的作用靶点的相互关系共 217 个。见图 3。

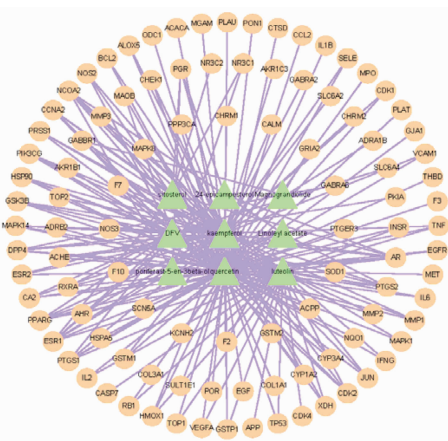


图 3 淫羊藿“活性成分-靶点”网络
Fig.3 Compound-target network of Epimedii Folium

2.3 ONFH 相关靶点检索分析 通过检索目前国际公认的 5 个疾病基因相关数据库,并搜集前期研

究和报道,共获得与 ONFH 发生,发展密切相关的已知的相关靶点基因 72 个,其中 TTD, DrugBank, OMIM, GAD, PharmGKB 数据库分别检索到 2, 0, 3, 46, 34 个靶点。

2.4 淫羊藿治疗 ONFH 的 PPI 网络构建与关键靶点筛选分析

2.4.1 淫羊藿治疗 ONFH 的 PPI 网络构建分析 通过 BisoGenet 对淫羊藿入血活性成分的作用靶点进行 PPI 网络构建可知,与其产生直接或间接作用的靶点共 6 134 个,而这些靶点与靶点之间的相互关系多达 138 994 个。与此同时,对 ONFH 相关的靶点绘制 PPI 网络图发现与其直接或者间接相关的靶点多达 2 594 个,靶点与靶点相互关系 59 937 个。

2.4.2 淫羊藿治疗 ONFH 的关键靶点筛选分析 通过 Cytoscape 对上述绘制的 2 个 PPI 网络图抽取交集网络,同时采用 CytoNCA 根据网络节点的拓拓扑属性筛选共发现关键节点 135 个。筛选策略示意图 4。

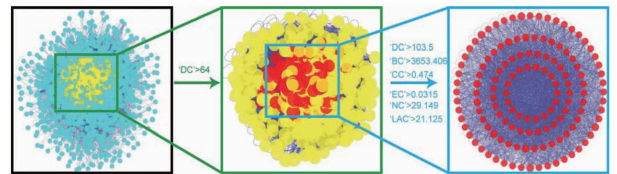


图 4 淫羊藿关键节点的目标筛选策略
Fig.4 Target screening strategy for key nodes in Epimedii Folium

2.5 淫羊藿治疗 ONFH 的机制分析 本研究利用 ClueGO 对上述 135 个关键节点进行富集分析,结果显示,淫羊藿作用于 ONFH 的关键节点涉及的信号通路主要与细胞增殖、细胞凋亡、炎症、应激及癌症相关等 80 条显著富集的信号通路相关。见图 5。

3 讨论

ONFH 是一种退行性难治性疾病,青壮年是高发人群,骨组织结构破坏及力学性能改变是本病最重要表现,发展到晚期可引起关节软骨和软骨下骨的塌陷并继发骨性关节炎。迄今为止,治疗方法有很多^[40],包括保护性负重、药物治疗、保髋手术及人工关节置换术等,其中手术治疗是 ONFH 晚期患者主要选用的方案,非手术治疗是早中期患者重要的干预手段治疗;中医药治疗具有经济简便、安全有效的优势,在治疗早、中期 ONFH 方面发挥着重要作用^[41]。中医学认为,肾为先天之本,肾精盛衰与骨的生长,发育及衰弱关系紧密,ONFH 本属肾精亏虚,故治疗应以补肾为主。

淫羊藿又称“三枝九叶草”,最早出自《神农本

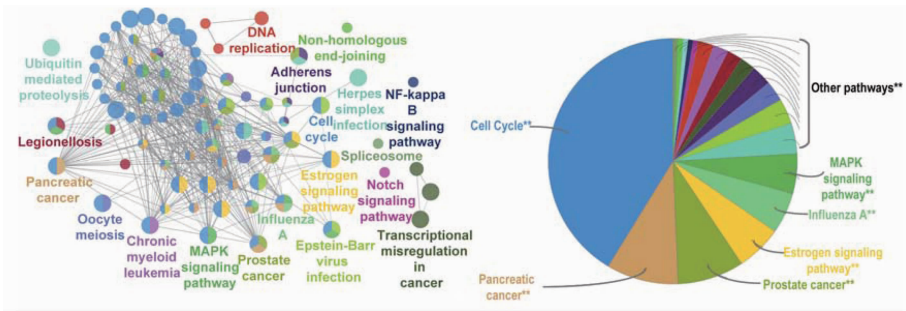


图 5 淫羊藿治疗股骨头坏死信号通路富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis of Epimedii Folium in signaling pathway in treatment of osteonecrosis of femoral head

草经》中品行列,属小蘗科淫羊藿属,其味甘、辛,性温,是补肾壮阳药,具有强筋骨、补肾阳、祛风湿功效,在治疗 ONFH 方面具有较好的临床疗效。本研究主要借助 OB 和 DL 等 ADME 参数对 TCMSP 数据库和分析平台中淫羊藿的活性成分进行筛选,其中 OB 表示生物口服利用度,好的药物吸收度和合适的药物分配对于口服药物的开发利用至关重要,通过计算机模型 OBioavail 采用偏最小二乘法,多元线性回归和支持向量机进行数学建模,统计结果显示 OB $\geq 30\%$ 的分子具有良好的口服生物利用度^[42]; DL 代表类药性,在药物开发中作为评判药物先导化合物是否有可能成药的重要依据,通过 Dragon 软件计算 TCMSP 数据库中所有成分类药性认为 DL ≥ 0.18 时分子具有较好的类药性^[43]。通过筛选获得淫羊藿中入血的活性成分 23 个,并在此基础上挖掘出 102 个可能的靶点和 217 个相互关系。“活性成分-靶点”网络分析显示,木犀草素、槲皮素和 β -谷甾醇、山柰酚等有效成分能作用于网络中的多个靶点,而 PPAR γ , ESR1, AR 等靶点也能与多个成分作用。基于上述结果可知,淫羊藿的有效成分之间存在协同关系,其调控的靶点也在疾病发生发展中发挥着关键作用。

从通路富集结果分析可知,淫羊藿主要通过影响细胞增殖、细胞凋亡、免疫、炎症、应激及癌症相关等通路而发挥治疗 ONFH 作用。①细胞增殖和凋亡相关通路。骨吸收和骨重建的动态平衡异常是引起 ONFH 的重要发病机制,故影响骨细胞生长,凋亡及分化等相关信号通路是调控过程中主要的信号通路。上述结果显示,主要富集在 Wnt 信号通路,转化生长因子- β (TGF- β) 信号通路, FoxO 信号通路,缺氧诱导因子(HIF)-1 α 信号通路,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK) 信号通路和 Notch 信号通路等。Wnt 信号通路能够促进间充质干细胞的更新,促进成骨分化,抑制成脂,在骨细胞的增殖,分化中发挥着重

要的调节作用^[44]。TGF- β 信号通路主要通过调节前体细胞而发挥诱导其向软骨细胞、成骨细胞分化和抑制破骨细胞活性的作用^[45]。ZHANG 等^[46]对 ONFH 动物模型的研究证实 HIF-1 α 上调 Sox9 活性可对 ONFH 软骨代谢产生影响, HIF-1 α 导致生长板内部缺氧区域内的细胞大量死亡。MAPKs 是真核生物细胞内广泛存在的一类介导细胞反应的重要信号传导系统,其可以受到生长因子、细胞因子、神经递质、激素等多种信号分子刺激后发生磷酸化而活化,进而发挥参与细胞增殖、分化、迁移、凋亡及应激反应等生理过程^[47]。Notch 信号通路在成骨细胞分化过程的早期可诱导成骨细胞中骨保护素的表达、抑制成骨细胞向成熟成骨细胞表型和成骨细胞功能发展,进而起到抑制破骨细胞形成和骨吸收的作用^[48]。②免疫和炎症相关通路。ONFH 是一种具有炎症特性的临床疾病,调控其病变周围的特殊炎症环境对于疾病的转归有着重要意义。炎症相关的信号通路主要富集在核转录因子(NF)- κ B 信号通路, B 细胞抗原受体信号通路及 T 细胞抗原受体信号通路等。NF- κ B 信号通路病理性的激活则参与了多种炎症和风湿性疾病的发生与发展,动物实验研究表明,在炎症反应的发展进程中 NF- κ B 起到了很重要的作用^[49]。B 细胞抗原受体信号通路的激活往往引起复杂的信号传递级联反应,进而导致细胞在代谢、基因表达和细胞骨架组织等发生变化^[50]。T 细胞抗原受体信号通路与机体免疫调节直接相关,具有直接杀伤靶细胞、干预 B 细胞产生抗体、参加免疫应答及产生细胞因子等多种生物学功能^[51]。③其他有关信号通路。体内代谢之间是相互作用、相互联系的,通过全身其他系统,如循环系统、神经系统等多种代谢可以间接影响或干预骨微环境。淫羊藿作用靶点富集分析结果还显示,网络集群中还覆盖了 EB 病毒感染,泛素介导的蛋白水解,酒精中毒, DNA 复制,癌症相关及内质网中的蛋白加工等

信号通路。通过上述富集分析结果可知,淫羊藿作用于 ONFH 的靶点富集通路之间在一定程度上存在着多种多样的相互作用关系,既存在相互协同的关系又存在相互拮抗的关系,故在治疗 ONFH 时,不仅要针对局部关键通路,还应针对疾病病因、所处机体环境的差异进行多靶点、多系统干预,这也恰恰体现中医药治疗疾病的特点——治病求本,标本兼治,也进一步说明中医多靶点、多方面进行综合干预的可行性和优势。

基于网络药理学和生物信息学分析能有效地揭示淫羊藿治疗 ONFH 可能的作用机制,为后续机制的进一步探讨和实验设计的优化等提供了重要的理论依据,使实验研究更加可行和合理。同时,也为相关机制的研究提供了思路和方法,尤其是中药及其复方针对某种特定疾病的机制分析。

[参考文献]

[1] 刘铁钢,陈卫衡. 非创伤性股骨头坏死的流行病学研究进展[J]. 医学综述, 2009,15(17):2637-2639.

[2] KANG P, XIE X, TAN Z, et al. Repairing defect and preventing collapse of femoral head in a steroid-induced osteonecrotic of femoral head animal model using strontium-doped calcium polyphosphate combined BM-MNCs[J]. J Mater Sci Mater Med, 2015, 26(2): 80-89.

[3] 王占有,周学龙,谢利双,等. 针刀与髓芯减压治疗早,中期股骨头缺血性坏死的临床随机对照研究[J]. 辽宁中医杂志, 2016,43(5):1055-1058.

[4] 张长青. 股骨头坏死保髓治疗指南(2016版)[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2016,2(2):65-70.

[5] 冯霞. 补肾中药的临床药理作用分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016,16(79):37-38.

[6] 刘彬,李刚,许波,等. 激素性股骨头坏死成脂分化学说及治疗现状[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(29):4730-4735.

[7] 任维龙,许波,李刚. 中医药治疗早期股骨头缺血性坏死疗效的 Meta 分析[J]. 中华中医药学刊, 2016,34(10):2454-2458.

[8] 王均玉,李刚. 髓芯减压术治疗股骨头坏死的研究进展[J]. 医学综述, 2010,16(17):2643-2646.

[9] 邢冰琪,孙洪胜,傅春升,等. 补肾活血法治疗激素性股骨头坏死的研究进展[J]. 中国药业, 2013, 22(24):15-17.

[10] 李刚. 中医药防治股骨头坏死研究概况[J]. 中华全科医学, 2011,9(6):956,959.

[11] 林海青,宋钦兰,李刚. 活血补髓汤对激素性股骨头坏死兔模型血浆内皮四项的影响[J]. 中国中西医结合

合外科杂志, 2010,16(1):36-39.

[12] 李刚,王均玉. 股骨头坏死的中医认识与研究现状[J]. 山西中医, 2010,26(5):52-54.

[13] 李刚,王均玉. 中药结合髓芯减压术治疗早期股骨头坏死疗效观察[J]. 山西中医, 2010,26(9):21-23.

[14] 郭振光,李刚. 股骨头坏死的药物治疗进展[J]. 山西中医, 2009,25(6):58-60.

[15] 王均玉,李刚,颜冰. 股骨头坏死动物模型研究进展[J]. 医学综述, 2009,15(21):3244-3247.

[16] 于福义,李刚. MRI 在股骨头坏死诊断中的应用研究[J]. 甘肃中医, 2011,24(2):24-27.

[17] 李文宝,李刚. 补肾中药诱导干预骨髓间充质干细胞成骨分化研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2013, 29(4):324-326.

[18] 高京龙,梁学振,李刚,等. 体外冲击波疗法治疗股骨头坏死的荟萃分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017,17(52):11-14,17.

[19] 孙彬,李刚. 补肾活血汤治疗股骨头坏死 38 例观察[J]. 实用中医药杂志, 2013,29(12):987-988.

[20] 李刚. 中药活血补髓汤治疗股骨头坏死 21 例[J]. 陕西中医学院学报, 2008,31(6):42-43.

[21] 梁学振,许波,李刚,等. 活血健骨片联合依降钙素治疗早期股骨头坏死 57 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2017,25(10):44-47.

[22] 李刚,张世华. 股骨头坏死骨髓水肿研究进展[J]. 中国中西医结合影像学杂志, 2010,8(5):450-453.

[23] 李刚,刘伟,孟凯,等. 髋关节一过性骨质疏松与股骨头缺血性坏死的影像学鉴别[J]. 中国中西医结合影像学杂志, 2004,2(3):229-231.

[24] 李刚. 股骨头缺血性坏死分期体系的回顾与评价[J]. 中国临床康复, 2004,8(23):4812-4814.

[25] 孟东方,李慧英,阮志磊,等. 淫羊藿对激素性股骨头坏死兔模型血钙血磷的影响[J]. 中医学报, 2015,30(4):545-547.

[26] 李晓阳,李茜. 基于中医传承辅助系统的毕荣修教授治疗激素性股骨头坏死处方规律探析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016,22(19):177-181.

[27] LI Y, ZHANG J, ZHANG L, et al. Systems pharmacology to decipher the combinational anti-migraine effects of *Tianshu formula* [J]. J Ethnopharmacol, 2015,174(15):45-56.

[28] LIU H, WANG J, ZHOU W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: an example using licorice [J]. J Ethnopharmacol, 2013,146(3):773-793.

[29] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(6):

- 6964-6982.
- [30] MA C, WANG L, XIE X Q. GPU accelerated chemical similarity calculation for compound library comparison [J]. *J Chem Inf Model*, 2011,51(7):1521-1527.
- [31] LI J, ZHAO P, LI Y, et al. Systems pharmacology-based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufeif Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2015, doi:10.1038/srep15290.
- [32] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003,13(11):2498-2504.
- [33] LIU X, ZHU F, MA X, et al. The therapeutic target database: an internet resource for the primary targets of approved, clinical trial and experimental drugs [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011,15(8):903-912.
- [34] Wishart D S, Knox C, GUO A C, et al. DrugBank: a knowledgebase for drugs, drug actions and drug targets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008,36(Database issue):D901-D906.
- [35] Hamosh A, Scott A F, Amberger J S, et al. Online mendelian inheritance in man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004,33(Database i):D514-D517.
- [36] Becker K G, Barnes K C, Bright T J, et al. The genetic association database. [J]. *Nat Genet*, 2004,36(5):431-432.
- [37] MA Q, LU A Y. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine [J]. *Pharmacol Rev*, 2011,63(2):437-459.
- [38] TANG Y, LI M, WANG J, et al. CytoNCA: a cytoscape plugin for centrality analysis and evaluation of protein interaction networks [J]. *Biosystems*, 2015, doi: 10.1016/j.biosystems.2014.11.005.
- [39] Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, et al. ClueGO: a cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks [J]. *Bioinformatics*, 2009,25(8):1091-1093.
- [40] 李子荣. 股骨头坏死临床诊疗规范[J]. *中国矫形外科杂志*, 2016,24(1):49-54.
- [41] 刘新宇, 曹林忠, 宋敏, 等. 中医药对激素性股骨头坏死防治的研究概况 [J]. *中国中医急症*, 2016,25(8):1561-1563.
- [42] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability [J]. *Int J Mol Sci*, 2012,13(12):6964-6982.
- [43] XU J, Stevenson J. Drug-like index: a new approach to measure drug-like compounds and their diversity [J]. *J Chem Inf Comput Sci*, 2000,40(5):1177-1187.
- [44] Dorman L J, Tucci M, Benghuzzi H. *In vitro* effects of bmp-2, bmp-7, and bmp-13 on proliferation and differentiation of mouse mesenchymal stem cells [J]. *Biomed Sci Instrum*, 2012,48(3):81-87.
- [45] ZHANG J, ZHANG X, XIE F, et al. The regulation of TGF-beta/SMAD signaling by protein deubiquitination [J]. *Protein Cell*, 2014,5(7):503-517.
- [46] ZHANG C, YANG F, Cornelia R, et al. Hypoxia-inducible factor-1 is a positive regulator of Sox9 activity in femoral head osteonecrosis [J]. *Bone*, 2011,48(3):507-513.
- [47] 付志斌, 李盛华, 周明旺, 等. 非创伤性股骨头坏死相关信号通路研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017,23(4):555-560.
- [48] 孙明宏, 卢丽霞, 赵刚. Notch 信号通路在骨与骨病中的研究进展 [J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2014,17(6):1029-1032.
- [49] SHA W C, Liou H C, Tuomanen E I, et al. Targeted disruption of the p50 subunit of NF-kappa B leads to multifocal defects in immune responses [J]. *Cell*, 1995,80(2):321-330.
- [50] WANG X N, GE X, LI J, et al. B cell receptor signaling pathway involved in benign lymphoepithelial lesions of the lacrimal gland [J]. *Int J Ophthalmol*, 2017,10(5):665-669.
- [51] 刘顺会, 肖兰凤, 黄树林. T 细胞受体信号转导通路的动力学分析 [J]. *数理医药学杂志*, 2008,21(6):641-646.

[责任编辑 全燕]