

基于网络药理学探讨黄芪在卒中相关性肌少症中的作用机制

刘利娟¹, 周德生¹, 童东昌², 颜思阳², 康 蕾², 陈 瑶¹, 杨仁义^{2*}

1. 湖南中医药大学第一附属医院 神经内科, 湖南 长沙 410007

2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 利用网络药理学方法对黄芪进行多成分、多靶点研究, 分析其在卒中相关性肌少症中的作用靶点及相关通路。方法 采用TCMSP数据库收集黄芪活性化合物并进行初步筛选; 采用Swiss Target Prediction数据库预测活性化合物靶点, 通过GeneCards数据库预测卒中相关性肌少症作用靶点, 取两者交集获得交互靶点。采用String数据库及Cytoscape软件Network analyzer功能构建共同靶点PPI网络。采用DAVID数据库并结合Cytoscape软件对共同靶点进行GO及KEGG富集分析。结果 收集筛选出黄芪20个活性化合物, 616个作用靶点, 卒中相关性肌少症136个作用靶点, 交集出25个交互靶点, 其中AKT1、IL-6、TNF、IGF1R、ESR1等蛋白相互作用最明显, 主要在细胞基质中影响类固醇结合、锌离子结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、雌激素受体活性、胰岛素及能量代谢等生物过程, 通过胰岛素抵抗、HIF-1信号通路、TNF信号通路等在卒中相关性肌少症中发挥作用, AKT1、PI3K、mTOR、IL-6、TNF等交互靶点在各通路中参与次数较多。结论 黄芪在卒中相关性肌少症中体现了多成分、多靶点、多途径的特点, 其可能通过调控IRS-1/PI3K/AKT2/mTOR信号通路, 靶向调控胰岛素抵抗途径相关能量代谢障碍, 进而治疗和预防卒中相关性肌少症。

关键词: 卒中相关性肌少症; 黄芪; 网络药理学; 胰岛素抵抗; 糖代谢

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2020) 07-1250-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.07.008

Based on network pharmacology to explore mechanism of *Astragali Radix* in stroke-related Sarcopenia

LIU Lijuan¹, ZHOU Desheng¹, TONG Dongchang², YAN Siyang², KANG Lei², CHEN Yao¹, YANG Renyi²

1. Department of Neurology, The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Objective To study the multi-components and multi-targets of *Astragali Radix* membranaceous by using the method of network pharmacology, and to analyze the targets and related pathways of *Astragali Radix* in stroke-related myosis. **Methods** The active compounds of *Astragali Radix* were collected by TCMSP database and screened. Swiss Target Prediction database was used to predict the target of active compounds, and GeneCards database was used to predict the target of stroke-related myosis. The common target PPI network is constructed by using String database and Cytoscape software Network analyzer function. DAVID database and Cytoscape software were used to analyze the enrichment of GO and KEGG. **Results** Totally 20 active compounds of *Astragali Radix*, 616 targets, 136 targets of stroke-related myosis were selected, and 25 interactive targets were intersected, among which AKT1, IL-6, TNF, IGF1R, ESR1 and other proteins had the most obvious interaction. It is mainly in the biological processes of steroid binding, zinc ion binding, protein serine / threonine kinase activity, estrogen receptor activity, insulin and energy metabolism in cell matrix. Insulin resistance, HIF-1 signaling pathway, TNF signaling pathway and other pathways play a role in stroke-related myosis. **Conclusion** *Astragali Radix* embodies the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway in stroke-related myosis. It may target the treatment and prevention of stroke-related myosis by regulating the role of IRS-1/PI3K/AKT2/mTOR signaling pathway in energy reward disorder under the influence of insulin resistance pathway.

Key words: stroke-associated sarcopenia; *Astragali Radix*; network pharmacology; insulin resistance; glucose metabolism

收稿日期: 2019-12-23

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81874463); 湖南省科技厅科技创新平台与人才计划(2017SK4005); 湖南中医药大学研究生创新课题项目(2018CX07); 湖南中医药大学中西医结合一流学科开放基金项目(2018ZXYJH10)

第一作者: 刘利娟(1985—), 女, 博士, 研究方向为中医药对脑血管病及其并发症的防治。E-mail: 601264967@qq.com

*通信作者: 杨仁义(1996—), 男, 硕士研究生, 研究生方向为神经系统疾病的中医药防治。E-mail: 792799735@qq.com

根据2018年EWGSOP2共识^[1],更新定义肌少症并将其确认为肌肉疾病,诊断码是ICD-10-MC。肌少症是一种进行性、全身性的骨骼肌疾病,以骨骼肌力量及质量下降为主要特征的临床综合征,分为原发性肌少症、继发性肌少症、急性肌少症(≤ 6 个月)、慢性肌少症(> 6 个月)、肌肉减少性肥胖及营养不良相关性肌少症6类,其中继发性肌少症以疾病相关性为主。脑卒中是目前中国居民十大死亡原因之首^[2],伴有半身不遂、口角歪斜、肌量降低、肌质量减弱等临床表现,将卒中导致的骨骼肌力量及质量下降的疾病定义为卒中相关性肌少症。卒中相关性肌少症作为一个新兴概念,已成为治疗、康复及评估的热点。

黄芪^[3],甘,微温,归脾、肺经。具有补气升阳、生津养血、行滞通痹、敛疮生肌等功效,能补气行血通滞。卒中后遗症期,气血血滞,肌肤筋脉失养,半身不遂者,常用本品治疗。黄芪及其有效成分对卒中及肌少症具有较好的治疗作用,Tang等^[4]研究发现黄芪甲苷能通过细胞焦亡途径减轻缺血性卒中脑损伤,穆静霞等^[5]研究发现黄芪能通过减少肌原纤维增生、增加肌量和肌体积等方式改善神经损伤性肌肉萎缩。黄芪及其有效成分既能改善缺血性卒中脑损伤,也能在神经损伤性骨骼肌萎缩中发挥正性肌力作用,所以黄芪及其有效成分可能在卒中相关性肌少症中具有较好的疗效。为揭示卒中相关性肌少症分子机制,探讨黄芪及其有效成分的干预作用,本研究利用网络药理学的方法,对黄芪进行多成分、多靶点研究,分析其在卒中相关性肌少症中的作用靶点及相关通路,为进一步研究卒中相关性肌少症提供新思路。

1 材料与方法

1.1 黄芪活性化合物收集及筛选

基于中药系统药理学数据库及分析平台^[6](TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>),收集黄芪活性化学成分。TCMSP数据库有药物吸收、分布、代谢及排泄(ADME)的参数^[7],以口服生物利用度^[8](Oral Bioavailability, OB) $\geq 30\%$,药物相似性^[9](Drug Likeness, DL) ≥ 0.18 ,初步筛选出黄芪活性化合物。

1.2 作用靶点预测与交互靶点筛选

利用 PubChem^[10](<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)及 Chempider^[11](<http://www.chemspider.com/>)数据库收集黄芪活性化合物结构式,将收集到的各活性化合物结构式保存为SDF或MOL格

式,将各活性化合物结构式导入 Swiss Target Prediction^[12](<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库对各活性化合物相关靶点进行预测,并将物种设定为智人(Homo sapiens),筛选并去除无化学结构的活性化合物,同时利用 UniProt^[13](<https://www.uniprot.org/>)数据库对活性化合物预测靶点进行命名规范化,最终得到黄芪活性化合物预测靶点。

利用 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)数据库,以"Stroke" AND "Sarcopenia"为检索词,收集卒中相关性肌少症疾病预测靶点。

利用 Bioinformatics Gent(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/beg>)中 Van de Peer Lab 在线工具取黄芪活性化合物预测靶点和卒中相关性肌少症疾病靶点的交集,从而获得二者交互靶点,并绘制韦恩图。

1.3 交互靶点蛋白PPI网络构建

利用 String^[14](<https://string-db.org/>)数据库,选择 Multiple Protein 模式,限定物种为 Homo sapiens,将所得交互靶点导入,设定最低要求互动分数为中度信度 0.400^[15],得到 PPI 相关信息。将 PPI 相关信息中 Node1、Node2、Combined score 值导入 Cytoscape 软件,并通过 Tool 工具中 Network analyzer 功能对 PPI 网络图进行拓扑分析,使 PPI 相关信息网络图可视化,根据 Degree 值对交互靶点进行分析。

1.4 交互靶点GO富集与KEGG通路富集分析

利用 DAVID^[16](<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库,将交互靶点进行 GO 富集与 KEGG 通路富集分析。将交互靶点以"OFFICIAL GENE SYMBOL"格式导入 DAVID 数据库,设定"Background"为"Homo sapiens",设定 $P < 0.05$,分别导出细胞组分(Cellular Component, CC)、分子功能(Molecular Function, MF)、生物过程(Biological Process, BP)、进行 GO 分析。同时导出 KEGG 通路,对 P 值取负对数,得出 $-\lg P$, P 值越小, $-\lg P$ 值越大,富集程度越大,反之亦然。

2 结果

2.1 黄芪活性化合物收集及筛选结果

通过 TCMSP 数据库共收集黄芪化合物 87 个。初步筛选后,化合物共有 20 个符合条件。见表 1。

2.2 作用靶点预测与交互靶点筛选结果

通过 Swiss Target Prediction 数据库对黄芪活性化合物靶点进行预测,筛选去除重复靶点,得到 616

表1 黄芪候选化合物基本信息

Table 1 Basic information of *Astragali Radix membranaceus* candidate compounds

化合物编号	化合物名称	OB/%	DL	化合物编号	化合物名称	OB/%	DL
MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
MOL000033	(3 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,10 <i>R</i> ,13 <i>R</i> ,14 <i>S</i> ,17 <i>R</i>)-10,13-dimethyl-17-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1 <i>H</i> -cyclopenta[<i>a</i>]phenanthren-3-ol	36.23	0.78	MOL000398	isoflavanone	109.99	0.3
MOL000354	isorhamnetin	49.6	0.31	MOL000417	calycosin	47.75	0.24
MOL000371	3,9-di- <i>O</i> -methylnissolin	53.74	0.48	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di- <i>O</i> -glucoside	41.72	0.69	MOL000433	fatty acids	68.96	0.71
MOL000378	7- <i>O</i> -methylisomucronulatol	74.69	0.3	MOL000438	(3 <i>R</i>)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	36.74	0.92	MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di- <i>O</i> -glucoside	49.28	0.62
MOL000380	(6 <i>aR</i> ,11 <i>aR</i>)-9,10-dimethoxy-6 <i>a</i> ,11 <i>a</i> -dihydro-6 <i>H</i> -benzofurano[3,2- <i>c</i>]chromen-3-ol	64.26	0.42	MOL000442	1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
MOL000387	bifendate	31.1	0.67	MOL000098	quercetin	46.43	0.28

个黄芪活性化合物靶点。通过 GeneCards 数据库数据,收集预测卒中相关性肌少症的靶点,得到136个卒中相关性肌少症靶点。

利用 Bioinformatics Gent 取交集获得黄芪活性化合物与卒中相关性肌少症交互靶点,交互靶点25个,得到韦恩图见图1,具体交互靶点见表2。

2.3 交互靶点蛋白PPI网络构建

利用 String 数据库及 Cytoscape 3.7.1 软件对交互靶点蛋白进行相互作用PPI网络分析,得出PPI网络图。为可视化更形象,自设定 $1 < \text{Degree} \leq 6$ 为蓝色; $7 \leq \text{Degree} < 12$ 为黄色; $13 \leq \text{Degree} < 19$ 为红色,并根据 Degree 值设定节点大小, Degree 值越大,节点越大,而 Combine score 值越大,边线颜色越粗,见图2、表3。

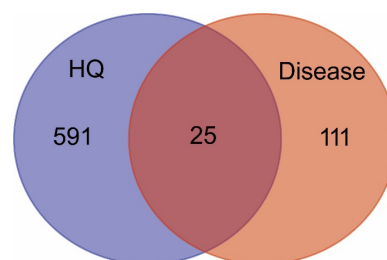


图1 黄芪活性化合物与卒中相关性肌少症交互靶点韦恩图
Fig. 1 Wayne map of interaction target between *Astragali Radix* active compounds and stroke-related sarcopenia

该网络图中25个节点,99条边,其中交互靶点与其 Degree 值关系具体见表3,其中蛋白激酶 Ba2(AKT1)、白介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)、胰

表2 黄芪活性化合物与卒中相关性肌少症交互靶点

Table 2 Interaction target of *Astragali Radix* active compounds and stroke related sarcopenia

编号	靶点	编号	靶点	编号	靶点	编号	靶点	编号	靶点
1	VDR	6	PIK3CG	11	MAPK10	16	FABP4	21	IGFBP3
2	ACE	7	IL2	12	HSF1	17	AKT1	22	AR
3	MC4R	8	IGFBP1	13	CA3	18	ACLY	23	ESR2
4	MMP3	9	BDKRB2	14	MTOR	19	ESR1	24	IL6
5	TTR	10	IGF1R	15	TNF	20	HSD11B1	25	RPS6KB1

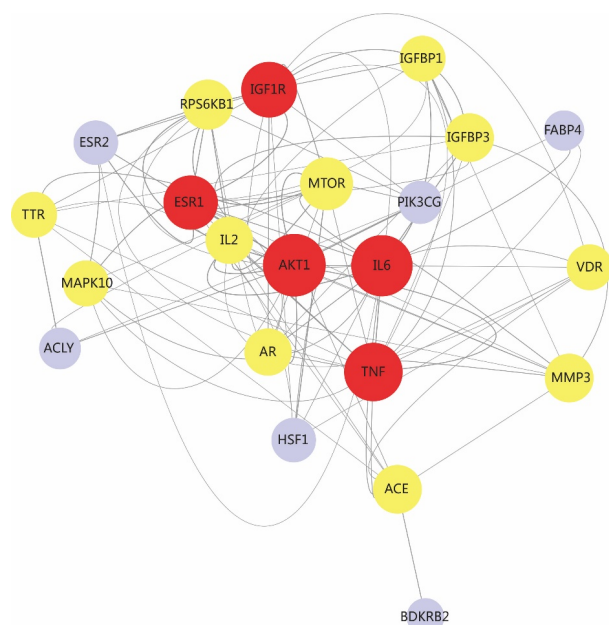


图2 交互靶点蛋白 PPI 网络图
Fig. 2 PPI network of interaction target protein

表3 交互靶点蛋白 Degree 值

Table 3 degree value of cross target protein

靶点	Degree	靶点	Degree
AKT1	19	AR	8
IL6	18	IGFBP1	7
TNF	16	TTR	7
IGF1R	14	MAPK10	7
ESR1	13	VDR	7
MTOR	12	ESR2	6
RPS6KB1	10	HSF1	6
IGFBP3	9	PIK3CG	5
ACE	9	ACLY	4
MMP3	9	FABP4	3
IL2	8	BDKRB2	1

表4 共同靶点 GO 富集 BP 结果

Table 4 BP results of CO target GO enrichment

通路	基因	-lgP
对胰岛素的反应	MC4R、MTOR、IGFBP3	3.054 264
雌二醇分泌的积极调节	IL6、TNF	2.093 157
RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调节	VDR、AR、TNF、HSF1、IL2	1.975 209
RNA 聚合酶 III 启动子转录的正调节	AR、MTOR	1.917 906
调节胰岛素样生长因子受体	IGFBP1、IGFBP3	1.793 807
转录	VDR、AR、ESR1、ESR2	1.700 122
TOR 信号通路	RPS6KB1、MTOR	1.656 763
精子	AR、ACE、HSF1	1.636 802
一氧化氮生物合成过程的积极调节	TNF、ESR1	1.553 286
生殖细胞发育	RPS6KB1、MTOR	1.523 742
类固醇激素介导的信号通路	VDR、AR	1.496 132
蛋白激酶 B 信号传导	TNF、RPS6KB1	1.323 388
干扰素-γ 产生的正调节	TNF、IL2	1.306 077

胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF1R)、雌激素受体 1 (ESR1) 等 Degree 值较大。结果表明黄芪可能通过多个作用靶点在卒中相关性肌少症中共同发挥作用。

2.4 交互靶点 GO 富集与 KEGG 通路富集分析结果

利用 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) 数据库, 将 25 个交互靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 富集分析, 共富集 13 个 BP; 1 个 CC; 9 个 MF, 56 个 KEGG 信号通路, 选出 KEGG 富集程度前 20 位, 对上述结果 P 值取负对数, 得出 “-lgP” 值, -lgP 值越大, 富集程度越大, 如表 4~7 所示, 其可视化如图 3 所示。

GO 富集分析结果显示, 交互靶点主要分布于细胞外基质中, 通过影响类固醇结合、锌离子结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性、雌激素受体活性、胰岛素样生长因子 II 结合、胰岛素样生长因子 I 结合、ATP 结合、序列特异性 DNA 结合、细胞因子活性方式, 参与对胰岛素的反应、雌二醇分泌的积极调节、RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调节、RNA 聚合酶 III 启动子转录的正调节、调节胰岛素样生长因子受体信号通路、转录、TOR 信号通路、精子、一氧化氮生物合成过程的积极调节、生殖细胞发育、类固醇激素介导的信号通路、蛋白激酶 B 信号传导、干扰素-γ 产生的正调节等生物进程。

KEGG 富集分析结果显示, 交互靶点主要参与的关键通路为南美锥虫病 (美洲锥虫病)、胰岛素抵抗、HIF-1 信号通路、TNF 信号通路、癌症中的蛋白多糖、mTOR 信号通路、催乳素信号通路、癌症的途径、前列腺癌、ErbB 信号通路、癌症中的胆碱代谢、

表5 共同靶点GO富集CC结果

Table 5 CC results of CO target GO enrichment

通路	基因	$-\lg P$
细胞外基质	TTR、ACE、IL6、TNF、IGFBP1、IGFBP3、IL2	2.638 614

表6 共同靶点GO富集MF结果

Table 6 MF results of CO target GO enrichment

通路	基因	$-\lg P$
类固醇结合	AR、ESR1、ESR2	3.121 395
锌离子结合	VDR、AR、ACE、ESR1、CA3、ESR2、MMP3	2.229 535
蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性	AKT1、PIK3CG、RPS6KB1、MTOR	2.181 102
雌激素受体活性	ESR1、ESR2	1.965 911
胰岛素样生长因子II结合	IGFBP1、IGFBP3	1.887 182
胰岛素样生长因子I结合	IGFBP1、IGFBP3	1.887 182
ATP结合	AKT1、PIK3CG、IGF1R、ACLY、RPS6KB1、MAPK10、MTOR	1.770 156
序列特异性DNA结合	VDR、AR、ESR1、ESR2	1.686 526
细胞因子活性	IL-6、TNF、IL-2	1.572 095

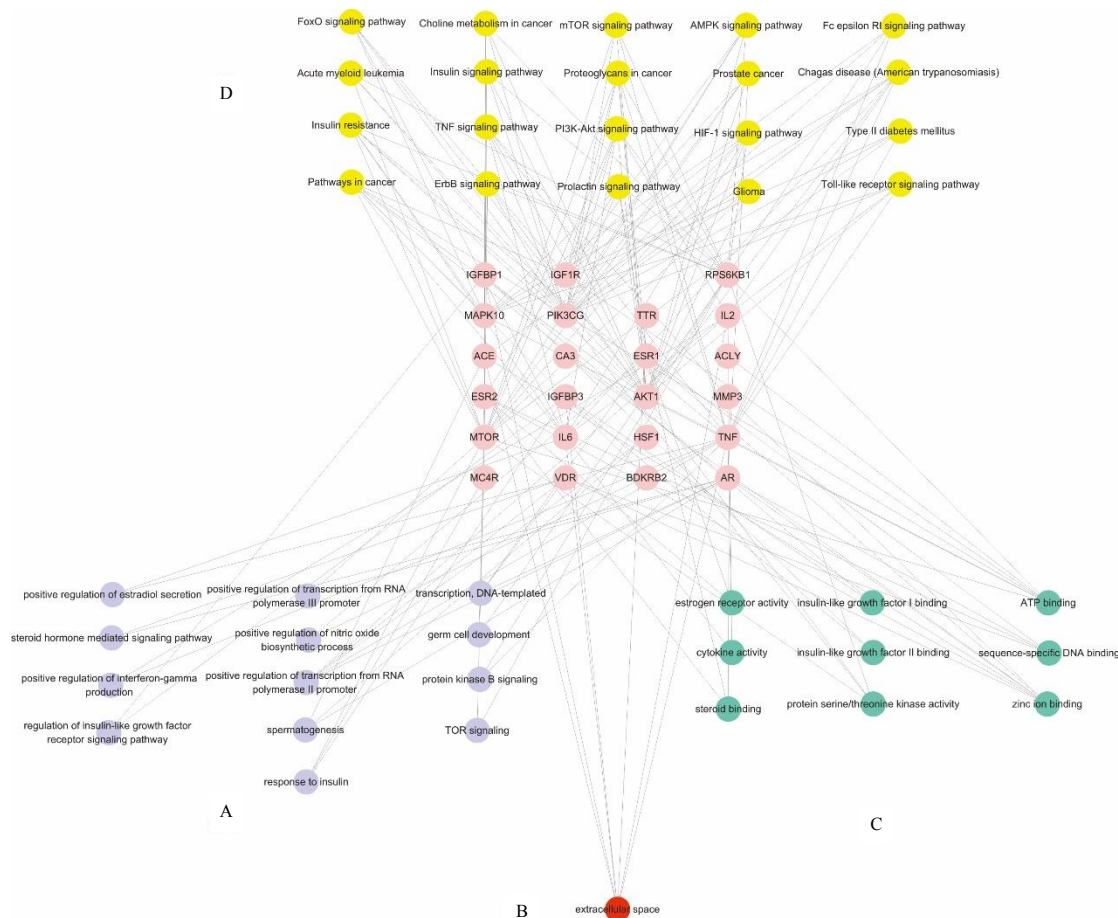
表7 KEGG通路富集分析结果

Table 7 enrichment analysis results of KEGG pathway

通路	基因	$-\lg P$
南美锥虫病(美洲锥虫病)	AKT1、PIK3CG、ACE、IL-6、TNF、MAPK10、IL-2	6.169 309
胰岛素抵抗	AKT1、PIK3CG、IL-6、TNF、RPS6KB1、MAPK10、MTOR	6.051 79
HIF-1信号通路	AKT1、PIK3CG、IGF1R、IL-6、RPS6KB1、MTOR	4.997 51
TNF信号通路	AKT1、PIK3CG、IL6、TNF、MAPK10、MMP3	4.769 294
癌症中的蛋白多糖	AKT1、PIK3CG、IGF1R、TNF、ESR1、RPS6KB1、MTOR	4.717 338
mTOR信号通路	AKT1、PIK3CG、TNF、RPS6KB1、MTOR	4.556 556
催乳素信号通路	AKT1、PIK3CG、ESR1、ESR2、MAPK10	4.333 602
癌症信号通路	AKT1、PIK3CG、IGF1R、AR、IL-6、BDKRB2、MAPK10、MTOR	3.929 725
前列腺癌	AKT1、PIK3CG、IGF1R、AR、MTOR	3.902 026
ErbB信号通路	AKT1、PIK3CG、RPS6KB1、MAPK10、MTOR	3.902 026
癌症中的胆碱代谢	AKT1、PIK3CG、RPS6KB1、MAPK10、MTOR	3.679 487
Toll样受体信号通路	AKT1、PIK3CG、IL6、TNF、MAPK10	3.611 788
PI3K-Akt信号通路	AKT1、PIK3CG、IGF1R、IL6、RPS6KB1、MTOR、IL-2	3.414 348
AMPK信号通路	AKT1、PIK3CG、IGF1R、RPS6KB1、MTOR	3.367 084
II型糖尿病	PIK3CG、TNF、MAPK10、MTOR	3.344 938
急性髓性白血病	AKT1、PIK3CG、RPS6KB1、MTOR	3.220 222
胰岛素信号通路	AKT1、PIK3CG、RPS6KB1、MAPK10、MTOR	3.180 886
FoxO信号通路	AKT1、PIK3CG、IGF1R、IL6、MAPK10	3.156 056
胶质瘤	AKT1、PIK3CG、IGF1R、MTOR	3.064 75
Fc epsilon RI信号通路	AKT1、PIK3CG、TNF、MAPK10	3.023 789

Toll样受体信号通路、PI3K-Akt信号通路、AMPK信
号通路、II型糖尿病、急性髓性白血病、胰岛素信号

通路、FoxO信号通路、胶质瘤、Fc epsilon RI信号
通路。



A-BP 结果;B-CC 结果;C-MF 结果;D-KEGG 结果

A-BP result; B-CC result; C-MF result; D-KEGG result

图3 交互靶点GO及KEGG可视化结果

Fig. 3 Visualization results of interactive target GO and KEGG

3 讨论

卒中相关性肌少症^[17]是由于各种因素致传出神经通路受损的脑损伤,出现肌肉失神经支配,活动度下降,分解代谢增强,脂肪沉积等病理生理变化,从而引起肌量、肌力、肌体积降低,肌肉萎缩及结构功能发生变化,以骨骼肌纤维转化为快收缩纤维和炎性因子水平增高为特征且与年龄无关的一种综合征。卒中下运动神经元出现迟缓性瘫痪,即周围性瘫痪,从而出现肌肉萎缩,此外卒中后遗症长期卧床导致废用性肌萎缩,两种主要因素致使上下肢骨骼肌的肌量、肌力、肌体积下降,从而出现一系列卒中相关性肢体疾病。卒中在中医中以猝然昏仆、半身不遂、口角歪斜、偏身麻木、舌强言蹇等为主症。《金匱要略·卒中历节病脉证第五》:“半身不遂,但臂不遂”“邪在于络,肌肤不仁”,《内经》:“偏风、偏枯、痿厥”等描述。卒中后会出现上肢或下肢出现不同程度乏力、萎缩、瘫痪等。

网络药理学^[18]是以大数据挖掘为基础,整合多学科现代化技术,以网络可视化形式揭示“中药靶点∩疾病靶点=交互靶点”三者之间相互作用关系,为中药靶向、精准治疗疾病提供理论支撑。本研究基于网络药理学方法,以黄芪为研究对象,寻找其与卒中相关性肌少症之间的交互靶点,分析黄芪在治疗及预防卒中相关性肌少症中的作用机制。

本研究通过收集并初步筛选黄芪活性化合物共得到20个符合ADME参数的活性化合物。部分活性化合物已被证实能通过调控凋亡、自噬、血管生成、炎症、氧化应激、线粒体功能及能量代谢途径等发挥作用,研究报道^[19]证实磺化芒柄花素对缺血性卒中具有保护作用,其作用机制可能与调控细胞凋亡和血管生成有关;此外毛蕊花素^[20]也被证实能通过调控细胞自噬、细胞凋亡及炎症反应参与卒中后机体的神经保护;并且在线粒体功能障碍、能量代谢障碍途径中,已有研究证实山奈酚^[21]具有较好

的治疗作用。

对黄芪中20个活性化合物进行靶点预测,共对应616个黄芪活性化合物靶点,同时基于数据库检索脑卒中相关性肌少症疾病靶点,共得到136个卒中相关性肌少症靶点,利用韦恩图得到两者25个交互靶点。研究发现,异黄酮能显著降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6^[22-24]等促炎性因子的表达,促进mTOR^[25]的表达。Granato等^[26]研究发现,槲皮素能减少了IL-6和IL-10细胞因子的释放,降低PI3K、AKT、mTOR、STAT3蛋白的表达,从而抑制自噬相关通路。Wang等^[27]研究发现山奈酚和槲皮素能降低IGF1R和ESR1蛋白的表达,从而抑制前列腺癌细胞凋亡作用。所以黄芪化合物能有效调节交互靶点的表达,从而具有调节疾病与表型的作用。

交互靶点蛋白PPI网络结果发现,黄芪活性化合物靶点蛋白卒中相关性肌少症靶点蛋白具有复杂的网络相互作用关系,其结果发现,主要通过炎症因子、酶、趋化因子、肿瘤坏死因子等发挥作用。AKT1作为AKT激酶之一,调节增殖代谢、细胞生长存活及血管生成等途径,介导下游100多种底物的丝氨酸和或苏氨酸磷酸化,从而调节胰岛素诱导的易位来影响葡萄糖摄取。大量研究结果发现,Akt1^[28]不仅是脑卒中诊断和预防中的关键蛋白,同时也是骨骼肌糖酵解^[29]和快肌纤维恢复的重要靶点。IL-6作为急性期反应的有效诱导剂,具有多种生物学功能,参与淋巴细胞和单核细胞分化,对B细胞、T细胞、CNS细胞等具有重要调控作用,同时具有肌肉激素的作用,能增加脂质分解和改善胰岛素抵抗的作用。Bian等^[30]临床研究发现,炎症与肌肉减少症具有密切的关联,其中与IL-6和TNF- α 有关。不仅炎症因子IL-6与肌肉减少症相关,而且与缺血性卒中的生物标志物和治疗有关,此结论在Esenwa等^[31]的研究中得到证实,然而炎症因子是否能作为卒中相关性肌少症的诊断及治疗特异性靶点仍有待进一步研究。IGFBP1具有延长类胰岛素生长因子(IGF)半衰期的作用,同时能改变IGF与细胞表面受体相互作用,从而调控IGF对细胞的生长促进作用,促进细胞迁移,Axelsson^[32]研究发现IGFBP-1与蛋白质-能量营养不良和肌肉减少症相关,此过程受葡萄糖代谢及炎症反应的影响,但是在Kaplan^[33]的研究中发现IGFBP-1与年龄相关性缺血性卒中无明显相关性,而低IGFBP-3与年龄缺血性卒中风险增高有关,所以IGFBP-1可能不是年龄相关性指标。IGFBP-1是否能通过影响葡萄糖代

谢、炎症反应等途径影响卒中相关性肌少症,同时它能否成为鉴别原发性肌少症与卒中相关性肌少症的关键因子将是我们亟待解决的问题。

GO富集结果表明,黄芪能介导在细胞外基质中的活性化合物与卒中相关性肌少症交互靶点,影响蛋白质结合和酶活性等多种方式,参与机体能量代谢、激素调节、RNA转录、信号通路途径及细胞生长发育等多种生物进程共同发挥作用。KEGG通路富集结果表明,黄芪主要通过胰岛素抵抗途径、HIF信号通路、TNF信号通路、mTOR信号通路,Toll样受体信号通路、PI3K-Akt信号通路等影响卒中相关性肌少症,进一步分析可知,AKT1、PI3K、mTOR、IL6、TNF等交互靶点在各通路中参与次数较多,表明黄芪能更大限度的基于这些交互靶点影响各通路中靶点水平的变化,从而影响生物进程,发挥抗卒中相关性肌少症的作用。

胰岛素抵抗是由先天免疫所介导的,炎症因子、脂肪组织及免疫系统共同参与的一种长期的慢性低水平炎症状态。在骨骼肌中,胰岛素与其受体结合,使受体底物酪氨酸磷酸化,从而激活PI3K发生磷酸化级联反应,使谷氨酰胺转移到骨骼肌细胞膜上,从而激发葡萄糖主动转运至胞内合成肌糖原。当胰岛素抵抗发生时,胰岛素受体底物酪氨酸磷酸化障碍,从而影响骨骼肌中糖代谢,使骨骼肌、脂肪组织摄取利用葡萄糖障碍。Park^[34]研究发现,胰岛素抵抗下的糖代谢障碍是卒中和肌少症发生的关键进程之一,但是在卒中相关性肌少症的糖代谢障碍目前尚未研究。基于本次研究胰岛素抵抗KEGG图分析,卒中相关胰岛素抵抗条件下,骨骼肌细胞通过IRS-1/PI3K/AKT2/mTOR通路变化使得糖原生成减少,骨骼肌糖代谢障碍,使骨骼肌肌量、肌力及肌肉体积降低,致使卒中相关性肌少症的发生。

基于网络药理学分析黄芪在卒中相关性肌少症中的作用,预测其交互靶点,分析交互靶点蛋白相互作用关系,得出交互靶点相关生物进程和信号通路,预测黄芪可能通过调控IRS-1/PI3K/AKT2/mTOR信号通路在胰岛素抵抗途径影响下的能量代谢障碍中的作用来靶向治疗和预防卒中相关性肌少症,为进一步研究卒中相关性肌少症提供理论依据。

参考文献

- [1] Cruz-Jentoft A J, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis

- [J]. Age Ageing, 2019, 48(4): 601.
- [2] GBD DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet, 2018, 392(10159): 1859-1922.
- [3] 李时珍. 本草纲目. 下册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [4] 唐 标, 唐文静, 唐映红, 等. 黄芪甲苷减轻大鼠脑缺血再灌损伤并抑制 NF- κ B 磷酸化及 NLRP3 炎症小体活化 [J]. 生理学报, 2019, 71(3): 424-430.
- [5] 穆静霞, 杨胜波. 黄芪对注射性坐骨神经损伤致大鼠肌萎缩的改善作用 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(4): 407-410.
- [6] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6: 13.
- [7] Morcos P N, Yu L, Bogman K, et al. Absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) of the ALK inhibitor alectinib: results from an absolute bioavailability and mass balance study in healthy subjects [J]. Xenobiotica, 2017, 47(3): 217-229.
- [8] Tian S, Li Y Y, Wang J M, et al. ADME evaluation in drug discovery. 9. Prediction of oral bioavailability in humans based on molecular properties and structural fingerprints [J]. Mol Pharm, 2011, 8(3): 841-851.
- [9] Tian S, Wang J M, Li Y Y, et al. Drug-likeness analysis of traditional Chinese medicines: prediction of drug-likeness using machine learning approaches [J]. Mol Pharm, 2012, 9(10): 2875-2886.
- [10] Kim S, Chen J, Cheng T J, et al. PubChem 2019 update: improved access to chemical data [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(1): 1102-1109.
- [11] Editorial: ChemSpider: a tool for Natural Products research [J]. Nat Prod Rep, 2015, 32(8): 1163-1164.
- [12] Gfeller D, Michielin O, Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules [J]. Bioinformatics, 2013, 29(23): 3073-3079.
- [13] UniProt Consortium T. UniProt: the universal protein knowledgebase [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46(5): 2699.
- [14] von Mering C, Jensen L J, Snel B, et al. STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms [J]. Nucleic Acids Res, 2005, 33: 433-437.
- [15] Szklarczyk D, Gable A L, Lyon D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47(D1): D607-D613.
- [16] Dennis G, Sherman B T, Hosack D A, et al. DAVID: database for annotation, visualization, and integrated discovery [J]. Genome Biol, 2003, 4(5): P3.
- [17] Scherbakov N, Sandek A, Doehner W. Stroke-related sarcopenia: specific characteristics [J]. J Am Med Dir Assoc, 2015, 16(4): 272-276.
- [18] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇 [J]. 药学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [19] Zhu H B, Zou L B, Tian J W, et al. Protective effects of sulphonated formononetin in a rat model of cerebral ischemia and reperfusion injury [J]. Planta Med, 2014, 80(4): 262-268.
- [20] Wang Y, Ren Q Y, Zhang X, et al. Neuroprotective mechanisms of calycosin against focal cerebral ischemia and reperfusion injury in rats [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 45(2): 537-546.
- [21] Wu B, Luo H, Zhou X, et al. Succinate-induced neuronal mitochondrial fission and hexokinase II malfunction in ischemic stroke: Therapeutic effects of kaempferol [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(9): 2307-2318.
- [22] Lee C W, Park S M, Zhao R J, et al. Hederagenin, a major component of *Clematis mandshurica* Ruprecht root, attenuates inflammatory responses in RAW 264.7 cells and in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 29(2): 528-537.
- [23] Wu R, Dong S, Cai F F, et al. Active compounds derived from Fuzheng Huayu Formula protect hepatic parenchymal cells from apoptosis based on network pharmacology and transcriptomic analysis [J]. Molecules, 2019, 24(2): E338.
- [24] Kim G J, Song D H, Yoo H S, et al. Hederagenin supplementation alleviates the pro-inflammatory and apoptotic response to alcohol in rats [J]. Nutrients, 2017, 9(1): E41.
- [25] Wu A G, Zeng W, Wong V K, et al. Hederagenin and α -hederin promote degradation of proteins in neurodegenerative diseases and improve motor deficits in MPTP-mice [J]. Pharmacol Res, 2017, 115: 25-44.
- [26] Granato M, Rizzello C, Gilardini Montani M S, et al. Quercetin induces apoptosis and autophagy in primary effusion lymphoma cells by inhibiting PI₃K/AKT/mTOR and STAT3 signaling pathways [J]. J Nutr Biochem, 2017, 41: 124-136.
- [27] Wang S H, DeGroff V L, Clinton S K. Tomato and soy polyphenols reduce insulin-like growth factor-I-stimulated rat prostate cancer cell proliferation and apoptotic resistance *in vitro* via inhibition of intracellular

- signaling pathways involving tyrosine kinase [J]. *J Nutr*, 2003, 133(7): 2367-2376.
- [28] Li J, Lang J, Zeng Z Y, et al. Akt1 gene deletion and stroke [J]. *J Neurol Sci*, 2008, 269(1/2): 105-112.
- [29] Akasaki Y, Ouchi N, Izumiya Y, et al. Glycolytic fast-twitch muscle fiber restoration counters adverse age-related changes in body composition and metabolism [J]. *Aging Cell*, 2014, 13(1): 80-91.
- [30] Bian A L, Hu H Y, Rong Y D, et al. A study on relationship between elderly sarcopenia and inflammatory factors IL-6 and TNF- α [J]. *Eur J Med Res*, 2017, 22(1): 25.
- [31] Esenwa C C, Elkind M S. Inflammatory risk factors, biomarkers and associated therapy in ischaemic stroke [J]. *Nat Rev Neurol*, 2016, 12(10): 594-604.
- [32] Axelsson J, Qureshi A R, Divino-Filho J C, et al. Are insulin-like growth factor and its binding proteins 1 and 3 clinically useful as markers of malnutrition, sarcopenia and inflammation in end-stage renal disease? [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2006, 60(6): 718-726.
- [33] Kaplan R C, McGinn A P, Pollak M N, et al. Association of total insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor binding protein-1 (IGFBP-1), and IGFBP-3 levels with incident coronary events and ischemic stroke [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(4): 1319-1325.
- [34] Park S, Ham J O, Lee B K. A positive association between stroke risk and sarcopenia in men aged ≥ 50 years, but not women: results from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2008-2010 [J]. *J Nutr Health Aging*, 2014, 18(9): 806-812.