

关节康治疗骨性关节炎的网络药理学机制

彭鑫玉¹, 张海涛¹, 葛颖杰², 蔡森鑫², 辛鹏飞³, 王睿³,
李林鹏³, 赖斌³, 樊粤光², 庞智晖²

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院全国中医髋关节病重点专科, 广东广州 510405; 3. 樊粤光广东省名中医传承工作室, 广东广州 510405)

摘要:【目的】基于网络药理学探讨关节康治疗骨性关节炎的作用机制。【方法】通过中药系统药理学数据库(TCMSP)和中药系统药理学成分分析数据库(BATMAN-TCM)预测获得关节康的有效化合物及靶点基因, 利用GeneCards和在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)获得骨性关节炎疾病的相关靶点基因, 取关节康-骨性关节炎疾病交集基因。然后, 应用STRING在线数据库构建蛋白相互作用网络(PPI), 并筛选出关键基因, 再将关键基因输入Cytoscape 3.7.2软件以构建关节康-靶点-骨性关节炎可视化网络。最后, 借助DAVID在线工具进行交集靶点的基因本体论(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。【结果】共预测到关节康的有效化合物95个, 其对应的作用靶点共257个, 与骨性关节炎疾病密切相关的靶点共有2 868个, 获得关节康-骨性关节炎疾病交集靶点共109个, 从中筛选出38个关键靶点。GO分析结果显示, 关节康-骨性关节炎交集关键基因的生物过程主要是RNA聚合酶II启动子转录的正调控、一氧化氮(NO)生物合成过程的正调控、细胞对脂多糖的反应、血管生成、基因表达的正调控、序列特异性DNA结合转录因子活性的正调控、细胞增殖的正调控等。KEGG富集分析结果显示, 关节康-骨性关节炎交集关键基因的网络信息通路主要涉及癌症通路、南美锥虫病(美洲锥虫病)、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路、缺氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、膀胱癌、百日咳、乙型肝炎、利什曼病、沙门氏菌感染、癌症中的蛋白多糖等。【结论】基于网络药理学在分子水平进一步揭示了关节康治疗骨性关节炎的作用机制, 即通过癌症通路、TNF、HIF-1、NO生物合成过程的正调控、血管生成、RNA聚合酶II启动子转录的正调控和细胞对脂多糖的反应等治疗OA, 能为后续研究关节康治疗骨性关节炎的相关机制等提供新的方向。

关键词: 关节康; 骨性关节炎; 网络药理学; 癌症通路; 肿瘤坏死因子; 缺氧诱导因子; 一氧化氮; 脂多糖

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)10-2218-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.10.029

Mechanism of *Guanjie Kang* for Treatment of Osteoarthritis Based on Network Pharmacology

PENG Xin-Yu¹, ZHANG Hai-Tao¹, GE Ying-Jie², CAI Miao-Xin²,
XIN Peng-Fei³, WANG Rui³, LI Lin-Peng³, LAI Bin³,
FAN Yue-Guang², PANG Zhi-Hui²

(1. The First Clinical Medical School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China;

2. Key Dept. of National Chinese Medicine Coxarthropathy, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 3. Studio of Inheritance of Guangdong Famous Traditional Chinese

Medicine Doctor FAN Yue-Guang, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the mechanism of *Guanjie Kang* for the treatment of osteoarthritis based on network pharmacology. **Methods** The effective compounds and target genes of *Guanjie Kang* were achieved by Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine (BATMAN-TCM), the related target genes of osteoarthritis disease were obtained by GeneCards and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM),

收稿日期: 2020-06-07; 修回日期: 2021-04-26

作者简介: 彭鑫玉(1995-), 男, 在读硕士研究生; E-mail: 3126027053@qq.com

通讯作者: 庞智晖, 男, 博士, 硕士研究生导师, 主任医师; E-mail: 939763727@qq.com

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 81774336); 樊粤光广东省名中医传承工作室(粤中医办函[2019]5号)

and then *Guanjie Kang*-osteoarthritis disease intersection genes were obtained. Next, the protein-protein interaction network (PPI) was constructed by using STRING online database, and the key genes were screened out, and then the key genes were input into Cytoscape 3.7.2 software to build *Guanjie Kang*-target-osteoarthritis network. Finally, the intersection targets were given analysis of gene ontology (GO) function and enrichment of Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway by David online tool. **Results** A total of 95 effective compounds of *Guanjie Kang* were predicted, involving 257 corresponding targets, and 2 868 targets closely related to osteoarthritis were screened out. A total of 109 targets of *Guanjie Kang*-osteoarthritis disease intersection were obtained, in which 38 key targets were screened out. GO analysis results showed that the biological process of *Guanjie Kang*-osteoarthritis key intersection genes mainly included positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, positive regulation of nitric oxide (NO) biosynthetic process, cellular response to lipopolysaccharide, angiogenesis, positive regulation of gene expression, positive regulation of sequence-specific DNA binding transcription factor activity, positive regulation of cell proliferation, etc.. KEGG enrichment analysis showed that the network information pathway of *Guanjie Kang* osteoarthritis intersection key genes mainly involved in pathways in cancer, Chagas disease (American trypanosomiasis), tumor necrosis factor (TNF) signaling pathway, hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) signaling pathway, bladder cancer, pertussis, hepatitis B, leishmaniasis, salmonella infection, proteoglycan in cancer, etc.. **Conclusion** These results further reveal the mechanisms of *Guanjie Kang* for the treatment of osteoarthritis at the molecular level based on network pharmacology, through cancer pathways, TNF, HIF-1, positive regulation of NO biosynthetic process, angiogenesis, positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter, and cellular response to lipopolysaccharide, which can provide a new direction for the follow-up study of the treatment of osteoarthritis.

Keywords: *Guanjie Kang*; osteoarthritis; network pharmacology; cancer pathway; tumor necrosis factor (TNF); hypoxia-inducible factor (HIF); nitric oxide (NO); lipopolysaccharide

骨性关节炎(osteoarthritis)是一种常见的老年退行性关节病, 又称增生性关节炎、退行性关节炎或骨关节病。该病好发于髋、膝、踝等下肢负重关节, 病变常常累及关节软骨、软骨下骨、滑膜等组织, 最终导致患病关节疼痛、畸形和运动功能障碍, 大大降低了患者的生活质量^[1-2]。骨性关节炎属于中医学“骨痹”的范畴。《济生方》云:“风寒湿三气杂至, 合而为痹, 皆因体虚, 腠理空虚, 受风寒湿气而痹也。”痹证的形成内因是正气不足, 外因是风、寒、湿邪的侵入, 内虚外感而成痹。关节康为广州中医药大学第一附属医院的院内制剂, 是樊粤光教授以补肾活血法为组方依据, 集临床近20年的经验研制而成, 治疗骨性关节炎疗效确切^[3]。关节康由熟地黄、补骨脂、杜仲、枸杞、丹参、川芎、红花、木香、牛膝、木瓜等10味中药组成, 具有补肾壮骨、活血化瘀之功效。既往研究表明, 关节康通过促进软骨基质的合成, 抑制软骨基质的分解进程, 可达到促

进病变关节软骨修复的目的^[4-5]。本研究基于网络药理学构建复方-中药有效成分-靶点基因-骨性关节炎疾病共表达网络, 并对交集基因进行富集分析, 进一步探讨关节康治疗骨性关节炎的作用机制, 以期为其临床应用及后期试验奠定理论基础。现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 关节康活性化合物及其作用靶点预测 在中药系统药理学数据库(TCMSP)中, 分别检索关节康中熟地黄、杜仲、枸杞、丹参、川芎、红花、木香、牛膝、木瓜9味中药。再依据毒物药动力学参数(ADME), 以生物利用度(OB) > 30%、类药性(DL) > 0.18为限定条件, 筛选9味中药的有效成分及其作用靶点。因在TCMSP中未能检索出补骨脂, 故应用中药分子机制的生物信息学分析工具(BATMAN-TCM, <http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>)来预测补骨脂的作用靶点, 其通过“药物相

似性分数”的原理进行靶点预测,药物相似性分数指利用解剖-治疗-化学的药物分类系统(ATC)、药物的副作用,化合物相互作用计分的相似度,蛋白相互作用网络中心趋向性,功能富集相似度等计算得出各类相似分数,并通过LODO(leave-one-drug-out)法对预测结果进行验证,确保预测更为精确。即:将关节康中药的大写拼音分别输入至TCMSP或BATMAN-TCM数据库中,并将预测靶点基因的条件设置为默认值,得出10味中药的化合物成分及其预测的靶标基因。

1.2 骨性关节炎疾病靶点检索 以“osteoarthritis”为检索词,在GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、在线人类孟德尔遗传(OMIM)(<https://omim.org/>)2个在线数据库中检索骨性关节炎已知相关疾病靶点,将2个数据库检索出的疾病靶点汇总去重后得到骨性关节炎疾病靶点。

1.3 关节康-骨性关节炎疾病交集靶点基因相互作用网络的构建及核心基因筛选 获取关节康相关预测作用靶点和骨性关节炎已知疾病靶点后,用R语言运行脚本取两者靶点基因重叠交集,将交集基因导入STRING在线数据库(<http://string-db.org/>)进行蛋白相互作用网络的构建。通过R语言运行脚本分析计算每个靶点基因的邻接基因数目(即靶点基因之间相互作用的连线数目),并采用Excel作条状图以直观显示。

1.4 关节康-靶点-骨性关节炎疾病调控网络构建 为了进一步了解关节康治疗骨性关节炎的作用机制,将上述3步得到的“关节康-靶点-骨性关节炎”靶点导入Cytoscape 3.7.2软件(<http://www.cytoscape.org>)进行关节康治疗骨性关节炎疾病可视化调控网络模型的构建,其结构关系为“关节康-10味中药-有效化合物-靶点-骨性关节炎”。

1.5 基因本体论(GO)分析 GO分析是一个在生物信息学领域中广泛运用的系统,它包括生物学的3个方面:细胞组分、分子功能、生物过程。DAVID数据库是一个集生物功能注释、网络可视化和集成发现于一身的多功能生物信息数据库。本研究应用DAVID分析工具(<https://david.ncicrf.gov/>)对关节康-骨性关节炎疾病交集靶点基因进行GO富集分析,根据统计学超几何分布定量(P 值)评价存在于各GO注释中的蛋白质群,以 P 值反映

蛋白质生物学功能的显著性。将物种与背景设置为“Homo sapiens”(人类),设定 $P < 0.01$,得到关节康治疗骨性关节炎的生物过程、分子功能、细胞组分结果。采用ImageGP在线作图工具(<http://www.ehbio.com/ImageGP/>)制作GO分析结果气泡图。

1.6 京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 算法原理与GO富集分析相同。应用DAVID工具对关节康-骨性关节炎疾病交集靶点基因进行KEGG通路分析(设定 $P < 0.01$),将物种与背景设置为“Homo sapiens”(人类),得到关节康治疗骨性关节炎的主要作用通路,并对其通路进行分析,采用ImageGP在线作图工具制作KEGG通路气泡图。

2 结果

2.1 关节康有效化合物、作用靶点及骨性关节炎疾病靶点的预测结果 通过TCMSP和BATMAN-TCM平台检索总共预测到关节康的有效化合物95个,其中,熟地黄1个,木香3个,木瓜2个,红花14个,枸杞子9个,杜仲20个,丹参52个,川芎4个,川牛膝3个,补骨脂4个,中药之间存在17个共同有效化合物。随后,获得其作用靶点共257个。通过GeneCards和OMIM数据库共筛选获得骨性关节炎疾病靶点共2868个。取两者靶点的交集,最终获得关节康-骨性关节炎疾病交集靶点共109个。见图1。

2.2 关节康-骨性关节炎疾病交集靶点基因相互作用可视化网络及关键基因筛选结果 利用STRING在线数据库构建了交集靶点基因蛋白相互作用网络,见图2。蛋白相互作用网络包含38个蛋白质节点,659条相互作用关系,即节点间的连接线。然后从STRING输出string_interactions.tsv,并将其输入Cytoscape 3.7.2软件中,使用“CytoNCA”插件对该蛋白相互作用网络模型做关键靶点筛选,以该网络中的节点度值(Degree)大于平均值,获得关键靶点基因38个。

2.3 关节康-靶点-骨性关节炎疾病可视化调控网络 采用Cytoscape 3.7.2软件将关节康-靶点-骨性关节炎疾病绘制可视化调控网络图(见图3),图中清晰可见关节康中10味中药与有效化合物、有效化合物与关键靶点基因、关键靶点基因与骨性关节炎疾病之间分别的对应关系。关键靶点基因

2.5 关键基因的KEGG富集分析结果 关节康-骨性关节炎疾病交集的关键靶基因的KEGG富集分析结果主要涉及癌症通路、南美锥虫病(美洲锥虫病)、TNF信号通路、缺氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、膀胱癌、百日咳、乙型肝炎、利什曼病、沙门氏菌感染、癌症中的蛋白多糖等信号通路。见图5。

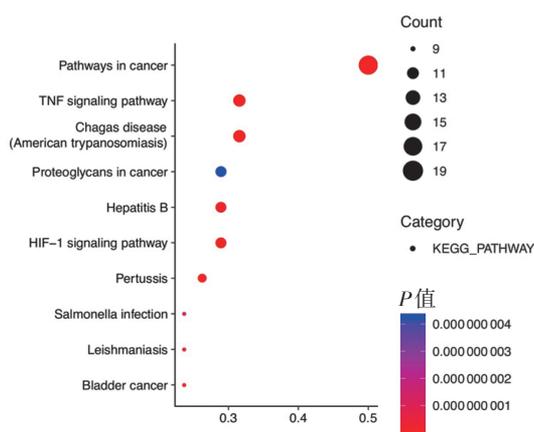


图5 关节康-骨性关节炎疾病交集的关键靶基因的KEGG富集分析结果

Figure 5 KEGG enrichment analysis results of key *Guanjie Kang*-osteoarthritis intersection targets

3 讨论

本研究借助网络药理学手段,初步挖掘、分析关节康治疗骨性关节炎的可能作用机制,并针对目前相关性较强且文献研究较充足的通路进行分析讨论。通过GO富集分析显示,关节康主要通过RNA聚合酶II启动子转录的正调控、NO生物合成过程的正调控、细胞对脂多糖的反应、血管生成等作用于骨性关节炎疾病。生物过程中RNA聚合酶II启动子转录的正调控的显著性居于首位。目前研究发现在骨性关节炎患者的关节液和组织中观察到炎症反应,并且炎症机制被认为是促进骨性关节炎进展的危险因素^[6],而RNA聚合酶II启动子转录的正调控与炎症机制密切相关。脂多糖又称内毒素,通过激活Toll样受体4,引发一系列信号级联反应,进而激活NF- κ B,从而启动一系列免疫相关基因^[7-8],导致炎性细胞浸润,诱发或加重炎症反应^[9]。故推测关节康可能通过RNA聚合酶II启动子转录的正调控和细胞对脂多糖的反应来控制炎症进而达到治疗骨性关节炎的目的。

骨性关节炎的主要病理改变为关节软骨的进

行性丢失和破坏^[10-11],软骨损伤时会分泌蛋白来修复受损的细胞外基质,该过程可导致软骨的内环境平衡改变,促进细胞因子分泌,影响凋亡通路,引起软骨细胞凋亡发生^[12]。受损的软骨细胞产生一种介导软骨细胞双重作用的多功能分子一氧化氮(NO)^[13],NO可以保护培养的软骨细胞免受氧化应激损伤,但NO升高可以抑制软骨细胞中白细胞介素1受体拮抗剂(IL-1RA)的合成,而软骨细胞产生的IL-1RA可有效抑制软骨的损伤与破坏,故NO升高异常是骨性关节炎发生的危险因素之一^[14]。骨性关节炎关节的血管生成与炎症反应相互影响^[15]。骨性关节炎伴有滑膜炎,且病理特征为巨噬细胞浸润,该细胞可分泌血管内皮生长因子(VEGF)^[16],VEGF可促进血管生成,有研究发现小鼠关节腔注射VEGF可诱发骨性关节炎^[17]。软骨细胞肥大(软骨细胞表型发生改变)和软骨内血管生成存在相互依存关系^[18],骨性关节炎患者软骨内血管生成可能诱发软骨内成骨,进而引起关节软骨细胞外基质矿化^[19]。因此,关节康可能通过作用于NO生物合成过程的正调控和血管生产等来调控关节软骨生产、凋亡、钙化等而达到治疗骨性关节炎的目的,具体机制还需进一步研究。

通过KEGG富集分析,关节康主要通过癌症通路、南美锥虫病(美洲锥虫病)、TNF信号通路、HIF-1信号通路、膀胱癌、百日咳、乙型肝炎、利什曼病、沙门氏菌感染、癌症中的蛋白多糖等作用骨性关节炎疾病。其中肿瘤通路的显著性最高,目前有研究显示,在骨性关节炎患者滑膜组织中发现了肿瘤信号通路的高调控,说明骨性关节炎滑膜组织具有肿瘤样特性,因此肿瘤通路可能为骨性关节炎治疗和诊断的潜在靶点基因^[20]。本研究结果显示,膀胱癌和癌症中的蛋白多糖与骨性关节炎密切相关,则是对上述观点的再次验证。目前发现,TNF- α 在骨性关节炎发生、发展中起重要作用^[21],TNF- α 在骨性关节炎患者血浆及关节液中的含量明显高于正常人,并且TNF- α 在关节内的含量与骨性关节炎病变程度密切相关^[22]。TNF- α 在骨性关节炎中过度表达可导致滑膜增生肥厚,并引起关节软骨的内环境改变,加重骨性关节炎退化。因此,抑制TNF- α 在滑膜中的表达,有利于降低骨性关节炎的发病率,减轻病变程度^[23]。因关节软骨中无血管,这限制了氧从滑液

和软骨下骨到软骨细胞的扩散^[24]。HIF-1由2个不同的亚基HIF-1 α 和HIF-1 β 组成, HIF-1 α 对软骨细胞的存活具有重要作用^[25], HIF-2 α 是自噬通量的有效负调节因子^[26], 对骨性关节炎起着整体有害作用, HIF-2 α 介导软骨破坏以及软骨细胞死亡, 均促进骨性关节炎病程的发展^[27]。目前, 尚未发现骨性关节炎与南美锥虫病(美洲锥虫病)、百日咳、乙型肝炎、利什曼病、沙门氏菌感染等感染性疾病有直接联系。因此, 推测关节康可能通过调控TNF和HIF-1来达到治疗骨性关节炎的目的。

综上所述, 本研究基于网络药理学分析关节康治疗骨性关节炎的作用机制, 发现关节康可能是通过癌症通路、TNF、HIF-1、NO生物合成过程的正调控、血管生成、RNA聚合酶II启动子转录的正调控和细胞对脂多糖的反应等来治疗骨性关节炎, 但还需要进一步的实验研究加以验证。关节康治疗骨性关节炎是多靶点、多通路、多选择的复杂机制过程, 是中医药防治疾病的整体观念和辨证论治指导思想的有效印证, 为进一步理解关节康治疗骨性关节炎的作用机制提供了重要的线索, 更为中医药治疗骨性关节炎提供了新的研究思路。本研究的局限性在于仅对关节康治疗骨性关节炎的作用机制进行了预测, 具体机制尚待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] 常亮, 秦江辉, 史冬泉, 等. 骨关节炎与软骨下骨研究进展[J]. 中华骨与关节外科杂志, 2019, 12(10): 827-832.
- [2] 卫彦强, 石继祥, 纪斌, 等. 骨性关节炎发病机制的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(5): 838-842.
- [3] 梁笃. 关节康治疗膝骨关节炎临床研究及对去分化软骨细胞影响的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [4] 曾建春. 补肾活血中药对膝OA患者生存质量影响及相关实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [5] 周斌. 关节康治疗膝骨性关节炎的实验与临床研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2006.
- [6] 程环宇, 李斯明, 孟庆奇, 等. 骨性关节炎的发病机制与炎症反应的关系[J]. 中外医学研究, 2020, 18(6): 185-188.
- [7] LU Y C, YE H W C, OHASHI P S. LPS/TLR4 signal transduction pathway[J]. Cytokine, 2008, 42(2): 145-151.
- [8] SESTITO S E, FACCHINI F A, MORBIOLI I, et al. Amphiphilic Guanidinocalixarenes inhibit lipopolysaccharide(LPS)-and lectin-stimulated Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling [J]. J Med Chem, 2017, 60(12): 4882-4892.
- [9] ROY A, SRIVASTAVA M, SAQIB U, et al. Potential therapeutic targets for inflammation in Toll-like receptor 4 (TLR4)-mediated signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2016, 40: 79-89.
- [10] XU L, LI Z, LIU S Y, et al. Asporin and osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2015, 23(6): 933-939.
- [11] CHEN D, SHEN J, ZHAO W, et al. Osteoarthritis: toward a comprehensive understanding of pathological mechanism [J]. Bone Res, 2017, 5: 1-13.
- [12] 王文涛, 李斯明. 骨关节炎关节软骨细胞凋亡的研究进展[J]. 中国骨科临床与基础研究杂志, 2019, 11(3): 180-188.
- [13] 王新军, 袁银鹏, 王越, 等. 软骨细胞凋亡引发骨关节炎的机制研究进展[J]. 山东医药, 2020, 60(2): 109-112.
- [14] DEL C M J, LOESER R F. Nitric oxide-mediated chondrocyte cell death requires the generation of additional reactive oxygen species[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(2): 394-403.
- [15] WALSH D A, BONNET C S, TURNER E L, et al. Angiogenesis in the synovium and at the osteochondral junction in osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15(7): 743-751.
- [16] MAPP P I, AVERY P S, MCWILLIAMS D F, et al. Angiogenesis in two animal models of osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2008, 16(1): 61-69.
- [17] LUDIN A, SELA J J, SCHROEDER A, et al. Injection of vascular endothelial growth factor into knee joints induces osteoarthritis in mice [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2013, 21(3): 491-497.
- [18] SANCHEZ C, DEBERG M A, BELLAHCÈNE A, et al. Phenotypic characterization of osteoblasts from the sclerotic zones of osteoarthritic subchondral bone [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(2): 442-455.
- [19] 郑洁, 王瑞辉, 寇久社. 血管生成及神经生长在骨关节炎中的作用[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(18): 5339-5342.
- [20] HUANG H, ZHENG J, SHEN N, et al. Identification of pathways and genes associated with synovitis in osteoarthritis using bioinformatics analyses[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 10050.
- [21] MCERLAIN D D, ULICI V, DARLING M, et al. An *in vivo* investigation of the initiation and progression of subchondral cysts in a rodent model of secondary osteoarthritis [J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(1): R26.
- [22] BOTHA-SCHEEPERS S, WATT I, SLAGBOOM E, et al. Innate production of tumour necrosis factor alpha and interleukin 10 is associated with radiological progression of knee osteoarthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2008, 67(8): 1165-1169.
- [23] 张俊峰, 郑稼, 赵永强, 等. 肿瘤坏死因子- α 在骨性关节炎滑膜中的表达及意义[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2015, 29(11): 1109-1111.
- [24] COIMBRA I B, JIMENEZ S A, HAWKINS D F, et al. Hypoxia inducible factor-1 alpha expression in human normal and osteoarthritic chondrocytes [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2004, 12(4): 336-345.
- [25] SCHIPANI E, RYAN H E, DIDRICKSON S, et al. Hypoxia in cartilage: HIF-1alpha is essential for chondrocyte growth arrest

- and survival[J]. *Genes Dev*, 2001, 15(21): 2865-2876.
- [26] BOHENSKY J, TERKHORN S P, FREEMAN T A, et al. Regulation of autophagy in human and murine cartilage: hypoxia-inducible factor 2 suppresses chondrocyte autophagy[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2009, 60(5): 1406-1415.
- [27] ZHANG F J, LUO W, LEI G H. Role of HIF-1 α and HIF-2 α in osteoarthritis[J]. *Joint Bone Spine*, 2015, 82(3): 144-147.

【责任编辑：侯丽颖】

基于稳定同位素比值的阳春砂产地判别分析

钟慧怡, 黄海波, 陈玉娥, 覃挺红
(广州中医药大学中药学院, 广东广州 510006)

摘要:【目的】测定不同产地阳春砂的稳定同位素比值, 探讨其地域特征及产地溯源的可能性。【方法】采用稳定同位素质谱法测定阳春砂中同位素比率, 结合正交偏最小二乘法判别分析(OPLS-DA), 分别对广东、广西、云南3个省份及阳春、崇左、西双版纳、文山4个地域代表性产地进行初步判别, 筛选出具有显著差异性的同位素, 采用线性判别分析(LDA)方法建立阳春砂产地判别模型。【结果】不同产地的阳春砂中稳定同位素 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 、 $\delta^{15}\text{N}$ 数值范围不同, 具有一定的地域特征, 其中 $\delta^{13}\text{C}$ 、 δD 为显著差异性同位素。建立的LDA判别模型对广东、广西和云南产地的判定准确率为76.9%, 4个代表性产地的判定准确率为89.7%。【结论】利用稳定同位素比值结合多元统计方法可较好地进行了阳春砂产地溯源, 具有一定的可行性和应用价值。

关键词: 阳春砂; 产地溯源; 稳定同位素; 多元统计法

中图分类号: R282.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)10-2224-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.10.030

Discrimination and Analysis of Geographical Origin of *Amomum villosum* Based on Stable Isotope Ratio

ZHONG Hui-Yi, HUANG Hai-Bo, CHEN Yu-E, QIN Ting-Hong

(School of Chinese Herbal Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To measure the stable isotope ratio of *Amomum villosum* from different habitats, and to explore its regional characteristics and possibility of geographic origin. **Methods** An isotope ratio-mass spectrometry was used to measure the stable isotope ratio of *Amomum villosum*, and combined with orthogonal partial least

收稿日期: 2020-10-28

作者简介: 钟慧怡(1995-), 女, 硕士研究生; E-mail: 704457617@qq.com

通讯作者: 黄海波(1965-), 男, 副教授; E-mail: bobhwang@gzucm.edu.cn

基金项目: 第四次全国中药资源普查项目(编号: 广东省 GZY-KJS-2019-003); 2017年广东省岭南中药材保护资金——广东省首批8种中药材保护品种生产技术规范制定和完善专项(编号: 粤财社[2017]60号)