山西大学学报(自然科学版)49(5):788—802,2026
Journal of Shanxi University(Nat. Sci. Ed.)

DOI:10.13451/j.sxu.ns.2026025

基于网络药理学探讨十全大补汤治疗肌少症的作用机制

赵佳琪[1,2],陈子龙[1,2],王玥[1],樊晓杰[1],李震宇[1,3],秦雪梅[1,3*],何盼[1*]

(1.山西中医药大学 太行本草研究院,山西 晋中 030619;
2.山西中医药大学 中药与食品工程学院,山西 晋中 030619;
3.山西大学 中医药现代研究中心,山西 太原 030006)

摘 要:本文基于网络药理学和机器学习,探讨十全大补汤治疗肌少症的作用机制。采用中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform,TCMSP)、中药靶点预测工具(Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechanism of Traditional Chinese Medicine,BATMAN-TCM)、人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man,OMIM)、人类基因综合数据库(The Human Gene Database,GeneCards)并整合基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus,GEO),检索十全大补汤的活性成分、作用靶点与肌少症疾病靶点;取成分靶点与肌少症疾病靶点,制作韦恩图,得出共同靶点,利用蛋白质相互作用数据库(Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes,STRING)和Cytoscape 3.10.0软件构建活性成分-肌少症共同靶点网络图、蛋白互作网络图,筛选关键靶点与核心靶点;通过注释、可视化和整合发现数据库(Database for Annotation,Visualization and Integrated Discovery,DAVID)进行基因本体(Gene Ontology,GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)信号通路富集分析,Cytoscape 3.10.0软件绘制"药物-化合物-疾病-靶点-通路"网络图;结合蛋白质-蛋白质相互作用(Protein-protein Interaction,PPI)网络筛选的潜在靶点,并结合机器学习筛选出核心靶点;利用贡献指数算法筛选关键化合物,对核心靶点基因和关键化合物开展分子对接。细胞实验采用毛蕊异黄酮干预D-半乳糖诱导的C2C12衰老成肌细胞,以CCK-8法筛选毛蕊异黄酮最佳作用浓度,采用实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应(Real-time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction,RT-qPCR)技术验证其对核心靶点mRNA的表达。共获得十全大补汤活性成分176个及其作用靶点316个、肌少症相关基因14 778个、十全大补汤活性成分与肌少症疾病共同靶点246个、十全大补汤治疗肌少症核心靶点58个,*AKT1*、*IL-6*、*TNF*、*INS*、*IL1B*、*TP53*、*PTGS2*、*CASP3*、*JUN*、*STAT3*居前10位;肿瘤坏死因子、胰岛素信号通路等是十全大补汤改善肌少症的主要通路;机器学习筛选出*CASP3*、*JUN*为关键基因;通过贡献指数算法,筛选出槲皮素、山柰酚、儿茶素、异鼠李素、木犀草素、毛蕊异黄酮为主要活性成分;分子对接表明,6个化合物与两个关键基因结合能均小于-20.92 kJ/mol。基于CCK-8法的细胞活性分析结果显示,6.25 μmol/L毛蕊异黄酮对D-半乳糖诱导的C2C12细胞增殖活性最强。RT-qPCR结果表明,与对照组相比,D-半乳糖(40 mg/mL)处理组细胞的*JUN*基因相对表达量显著升高(P<0.01),毛蕊异黄酮显著降低了*JUN*的相对表达量(P<0.001)。槲皮素、山柰酚、儿茶素、异鼠李素、木犀草素、毛蕊异黄酮为十全大补汤干预肌少症的主要活性成分,可能通过靶向关键基因*CASP3*、*JUN*,发挥治疗肌少症的作用。本研究为十全大补汤"多成分-多靶点-多通路"治疗肌少症作用机制提供了现代诠释。

关键词:十全大补汤;肌少症;网络药理学;机器学习;贡献指数;分子对接

中图分类号:R259 **文献标志码**:A **文章编号**:0253-2395(2026)05-0788-15

收稿日期:2025-10-31;**修回日期**:2026-04-21

基金项目:国家自然科学基金(82405058);山西省基础研究计划青年项目(202403021212248);山西中医药大学博士科研启动基金(2024BK05);来晋科研启动基金项目(2024BKS01);山西中医药大学科技创新能力培育计划"基础与临床合作研究专项"(2025PY-JL-28-01);山西省卫健委中医药科研课题(2024ZYYA026);山西省中医药科技创新工程项目(2024kjzy002);中药生命组学与创新药物研发研究室(zyyyjs2024019)

作者简介:赵佳琪(2000—),女,山西吕梁人,硕士研究生,研究方向为中药制剂研发及质量评价。E-mail:1322590040@qq.com

* **通信作者**:秦雪梅(Qin Xuemei),E-mail:qinxm@sxu.edu.cn;何盼(He Pan),E-mail:hepan@sxtcm.edu.cn

引文格式:赵佳琪,陈子龙,王玥,等.基于网络药理学探讨十全大补汤治疗肌少症的作用机制[J].山西大学学报(自然科学版),2026,49(5):788-802. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2026025.

Exploring the Mechanism of Shiquan Dabu Decoction in Treating Sarcopenia Based on Network Pharmacology

Zhao Jiaqi[1,2], Chen Zilong[1,2], Wang Yue[1], Fan Xiaojie[1], Li Zhenyu[1,3], Qin Xuemei[1,3*], He Pan[1*]

(1. *Taihang Institute of Chinese Materia Medica, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong* 030619*, China;*
2. *College of Traditional Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong* 030619*, China;*
3. *Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan* 030006*, China*)

Abstract: The objective of this study is to explore the potential mechanism of Shiquan Dabu Decoction (SQDBT) in treating sarcopenia based on network pharmacology and machine learning. Active components and targets of SQDBT, as well as sarcopenia-related targets, were obtained from TCMSP, BATMAN-TCM, OMIM, GeneCards and GEO databases. Venn diagram was used to obtain common targets of SQDBT and sarcopenia. STRING and Cytoscape 3.10.0 were applied to construct relevant networks and screen key/core targets. GO and KEGG enrichment analysis were conducted via DAVID, and Cytoscape 3.10.0 was used to draw the "drug-compound-disease-target-pathway" network. Core targets were screened by combining PPI network with machine learning, and key compounds by contribution index algorithm. Molecular docking was performed for core targets and key compounds. In the experimental section, D-galactose-induced C2C12 senescent myoblasts were intervened with calycosin. The optimal effective concentration of calycosin was screened by the CCK-8 assay, and RT-qPCR was used to verify its effect on the mRNA expression of core targets. A total of 176 active components (317 targets) of SQDBT, 14 785 sarcopenia-related genes, 246 common targets and 58 core targets of SQDBT for sarcopenia were identified. The top 10 core targets were *AKT1*, *IL-6*, *TNF*, *INS*, *IL1B*, *TP53*, *PTGS2*, *CASP3*, *JUN* and *STAT3*. TNF and insulin signaling pathways were the main regulatory pathways. CASP3 and JUN as key genes were identified by machine learning and Quercetin, kaempferol, catechin, isorhamnetin, luteolin and calycosin as main active components were screened by contribution index algorithm. Results of molecular docking showed that the binding affinities of the 6 compounds with the two key genes were all lower than −20.92 kJ/mol. CCK-8 assay indicated that 6.25 μmol/L calycosin had the strongest effect on the proliferation of D-galactose-induced C2C12 cells. The qRT-PCR results showed that D-galactose (40 mg/mL) significantly up-regulated *JUN* expression (P<0.01), while calycosin significantly down-regulated it (P<0.001). Quercetin, kaempferol, catechin, isorhamnetin, luteolin and calycosin are the main active components of SQDBT for sarcopenia, which may exert therapeutic effects by targeting *CASP3* and *JUN*. This study provides a modern interpretation of the action mechanism of Shiquan Dabu Decoction in treating sarcopenia with multiple components-multiple targets-multiple pathways.

Keywords: Shiquan Dabu Decoction; sarcopenia; network pharmacology; machine learning; contribution index; molecular docking

0 引言

肌少症(Sarcopenia)为一种与增龄相关的肌肉量减少、肌肉力量下降和/或躯体功能减退的老年综合征,其与多种不良结局密切相关,包括跌倒、骨折、身体功能障碍及死亡等[1]。流行病学调查表明,人体肌肉质量60岁以后每年减少2.5%~3.0%,80岁以上人群发生率高达50%[2]。当前肌少症的临床干预以营养支持与运动训练为主,治疗药物仍处于探索阶段,现有药物对该疾病仅起辅助治疗作用[3]。中医药以整体观与辨证论治为核心,在延缓衰老、改善肌肉衰减方面具有独特优势,从经典复方中挖掘安全有效的肌少症干预策略成为研究热点。

网络药理学在揭示中药复方的潜在治疗机制及效应成分方面显示出独特的效果,为从整体观角度理解中医药科学内涵提供了新视角[4]。金雨萌等[5]采用网络药理学结合斑马鱼模型研究参苓白术丸改善肌少症的关键活性成分,结果表明柚皮素可显著提升肌少症模型斑马鱼的运动能力,改善动物肌肉密度,下调肌肉萎缩盒蛋白32(F-box protein 32,FBXO32)、肌肉特异性环指蛋白1(Tripartite motif-containing 63,TRIM63)的mRNA表达,为参苓白术丸改善肌少症的关键成分。蒋佳慧等[6]基于网络药理学探讨补中益气汤治疗肌少症的作用机制,涉及肿瘤坏死因子信号通路、胰岛素抵抗、脂肪细胞因子信号通路等。刘钟元等[7]采用网络药理学和实验验证探究黄精治疗肌少症的作用机制,表明黄精可通过

激活EGFR/PI3K/Akt信号通路并抑制肌肉萎缩相关基因表达缓解肌少症。

十全大补汤由黄芪、党参、白术、茯苓、甘草、当归、川芎、熟地黄、白芍、肉桂组成。尹相锋[8]采用网络药理学探讨十全大补汤促进髋膝关节置换术后康复的作用机制,表明其改善关节置换术后营养不良和切口愈合与PI3K-Akt信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated Protein Kinase,MAPK)信号通路、神经营养素信号通路、叉头框蛋白O(Forkhead box O,FoxO)信号通路、甲状腺激素信号通路、T细胞受体信号通路、肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor,TNF)信号通路等有关。前期研究中已经证实十全大补汤可改善D-半乳糖诱导的肌少症模型大鼠肌肉衰减症状[9],但治疗肌少症的物质基础与核心通路有待系统阐明。本研究综合利用网络药理和分子对接技术,预测十全大补汤干预肌少症的潜在作用靶点及信号通路,并结合细胞实验进行验证,为肌少症发病机制及创新药物研发提供实验依据与理论支撑。

1 材料与方法

1.1 数据来源与分析工具

本研究使用的数据库及网址等信息见表1。

表1 使用数据库网址及版本信息

Table 1 Websites and version information of databases

序号	数据与软件	网址或版本
1	TCMSP	http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php
2	BATMAN-TCM	https://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/
3	PubChem数据库	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov
4	UniProt数据库	https://www.uniprot.org/
5	GeneCards数据库	https://www.genecards.org/
6	Gene Expression Omnibus	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/
7	OMIM	https://www.omim.org/
8	Venny 2.1	https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/
9	String	https://string-db.org/
10	Cytoscape 3.10.0	https://cytoscape.org/
11	DAVID数据库	https://david.ncifcrf.gov/
12	微生信	https://www.bioinformatics.com.cn/
13	RCSB PDB	https://www.rcsb.org/
14	RStudio	4.4.1
15	Chem3D	22.0
16	AutoDock.vina	1.5.7
17	PyMOL	2.6.0

1.2 SQDBT活性成分与作用靶点获取

采用中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)[10],以口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)[11]≥30%,类药性(Drug-likeness, DL)≥0.18为条件筛选活性化合物;在中药分子机制生物信息学分析工具(Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine, BATMAN-TCM)数据库中,以评分阈值Score = 30,$P_{adj.cut}$=0.05选取有效化合物,进一步使用UniProt数据库对所有靶点进行标准化,获得活性化合物靶点信息,剔除重复。

1.3 肌少症靶点获取与筛选

为了系统地识别与肌少症相关的潜在靶点,本研究采用三个数据库:在线人类孟德尔遗传(Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM)、GeneCards、基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO),以“sarcopenia”为关键词进行搜索,对所有肌少症相关靶点信息进行剔除重复并整合。

1.4 SQDBT与肌少症共有靶点的获取

将整理后的药物和疾病蛋白靶点输入Venny 2.1中获得疾病和药物共有靶点,并作韦恩图。

1.5 蛋白质(Protein-protein Interaction,PPI)网络的构建

将疾病和药物共有靶点导入STRING[12]数据库,设置物种为“Homo sapiens”、最低相互作用阈值为“medium confidence”,其余参数默认,生成文件导入Cytoscape 3.10.0软件,绘制靶点PPI图,采用Centiscape 2.2插件,以Betweenness unDir,Closeness unDir,Degree unDir筛选,得出潜在靶点。

1.6 GO与KEGG信号通路富集分析

使用DAVID数据库[13]对潜在靶点进行基因本体论(Gene Ontology,GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)分析。其中GO富集分析包括细胞组分(Cellular Components,CC)、分子功能(Molecular Function,MF)和生物过程(Biological Process,BP),物种设定为“Homo sapiens”,筛选条件为$P<0.05$,并使用微生信作图进行可视化分析。

1.7 “药物-化合物-疾病-靶点”网络拓扑学分析

将SQDBT中十味药物、1.2中筛选出的活性成分和1.4中筛选出的药物与疾病的共有靶点、1.5筛选的潜在靶点及其1.6中得到的KEGG通路导入Cytoscape 3.10.0软件,绘制SQDBT治疗肌少症的“药物-化合物-疾病-靶点”网络。

1.8 通过机器学习挖掘SQDBT干预肌少症的关键基因

为了进一步筛选最重要的核心靶点,通过GEO数据库,以“sarcopenia”和“Homo sapiens”为关键词检索高通量测序数据,选择GSE1428作为研究的数据集,使用R语言对GSE1428数据集进行基因标识符(Identifier,ID)转换、去批次和数据合并等操作。用R包中的函数计算差异基因并绘制火山图。采用最小绝对收缩和选择算子(Least Absolute Shrinkage and Selection Operator,LASSO)、随机森林(Random Forests,RF)以及支持向量机递归特征消除(Support Vector Machine-Recursive Feature Elimination,SVM-RFE)三种方法筛选SQDBT干预肌少症关键基因。

1.9 贡献指数算法筛选SQDBT改善肌少症的关键化合物

为了量化SQDBT化合物在改善肌少症中的作用,采用贡献指数(Contribution Index,I_C)计算方法。具体计算公式如下:

(1)网络效能(Network Based Efficacy,E_{NE})计算公式:

$$E_{NE}(j)=\sum_{i=1}^{n}d_i,$$

其中n是化合物j对应的靶点个数,d_i为靶点i与化合物j对应的度值,反映了每个靶点在网络中的重要性或连接度。E_{NE}是化合物j对应的所有靶点度值之和。

(2)I_C计算公式:

$$I_C(j)=\frac{c_j\times E_{NE}(j)}{\sum_{i=1}^{n}c_i\times E_{NE}(i)}\times 100\%,$$

其中c_j表示第j个化合物的文献支持度,通过该化合物在肌少症相关领域的研究数量来衡量。在相关文献挖掘中,采用“sarcopenia”和SQDBT活性化合物的通用名称作为关键词进行检索,检索范围为2000年至2025年间在PubMed数据库中发表的相关文献,检索内容为标题或摘要中均包含这些关键词的文章。$\sum_{i=1}^{n}c_i\times E_{NE}(i)$是所有化合物的加权贡献值总和,$I_C(j)$表示第$j$个化合物对肌少症的相对贡献程度。在分析中,若前$N$个化合物的$I_C$总和超过85%,则认为这$N$个化合物对肌少症改善的贡献最大。

1.10 关键成分及关键基因分子对接

将贡献指数算法筛选出的化合物,作为小分子配体,从PubChem数据库[14]下载相应的分子结构的.sdf格式文件,将其分子结构导入Chem3D中,采用MM2分子力学方法进行能量最小化,收敛阈值设为0.004 2 kJ/(mol·Å),导出为.pdb格式。将机器学习筛选出的关键基因,作为受体蛋白。受体蛋白来源为“Homo sapiens”,所选用的蛋白质结构均为与关键基因匹配的晶体结构,文件格式为.pdb。将配体和受体导入AutoDock Tools 1.5.7中进行添加氢原子,去除水分子,优化蛋白结构,进行分子对接,计算每个配体与靶标的结合能,以结合能<-20.92 kJ/mol作为化合物与靶点具有良好结合亲和力的判定依据,使用PyMOL软件进行可视化对接。

1.11 基于D-半乳糖诱导的C2C12衰老成肌细胞的关键成分及关键靶点的作用验证

1.11.1 实验用药物与试剂

实验用药物与试剂信息见表2。

1.11.2 实验仪器

主要实验仪器及生产厂家信息见表3。

表2 细胞培养、CCK-8、qPCR所用药物与试剂

Table 2 Reagents and drugs for cell culture, CCK-8 assay and qPCR

实验药物/试剂	生产厂商
小鼠C2C12成肌细胞	武汉普诺赛生命科技有限公司
DMEM高糖培养基	赛默飞世尔科技,中国
胎牛血清(FBS)	赛默飞世尔科技,中国
马血清(FES)	北京索莱宝公司,中国
青霉素-链霉素混合液(100×)	北京索莱宝公司,中国
胰蛋白酶-EDTA 消化液	北京索莱宝公司,中国
无血清非程序冻存液	武汉普诺赛生命科技有限公司
磷酸盐缓冲溶液(PBS)	武汉普诺赛生命科技有限公司
D-半乳糖(D-gal)	Sigma-Aldrich
毛蕊异黄酮	上海源叶生物科技有限公司
DMSO	赛维尔生物科技有限公司
CCK-8 试剂盒	北京博奥森生物技术有限公司
RNAiso PLUS	宝生物工程(大连)有限公司
氯仿替代物(核酸抽提辅助试剂)	武汉赛维尔生物科技有限公司
异丙醇	天津市致远化学试剂有限公司
PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)	宝生物工程(大连)有限公司
TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ (Tli RNaseH Plus)	宝生物工程(大连)有限公司

表3 细胞培养、CCk-8、qPCR所用实验仪器

Table 3 Experimental instruments used for cell culture, CCK-8 assay and qPCR

实验仪器	生产厂家
二氧化碳细胞培养箱(CLM-170B-8-CN)	太仓艺斯高医疗器械科技有限公司
生物安全柜(BSC-1000A2)	上海博讯医疗生物仪器股份有限公司
TE2000-U荧光倒置显微镜	Nikon公司
不同规格 Eppendorf 移液枪	Eppendorf公司,德国
涡旋混合器	海门市其林贝尔仪器制造有限公司
Explorer 称量天平	上海奥豪斯仪器有限公司
酶标仪(A51119600)	Thermo Scientific
基因扩增仪(TC-96/G/H(b)B)	杭州博日科技股份有限公司
Archimed™实时荧光定量PCR仪	鲲鹏基因(北京)科技有限公司
Quick Drop超微量分光光度计	北京生原诚业科技有限公司

1.11.3 细胞分组及干预

C2C12细胞在含体积分数10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的杜贝尔科改良伊格尔培养基(Dulbecco′s Modified Eagle Medium, DMEM)中,于37 ℃、体积分数5%CO_2培养箱中培养至密度约70%,更换为含2%马血清的DMEM分化培养基,继续培养5天,通过显微镜观察,待肌管形成率大于80%,以每毫升1×10^4个细胞接种于96孔板中,分为空白组、D-半乳糖模型组(40 mg/mL D-gal)、毛蕊异黄酮给药组(40 mg/mL D-gal+100、50、25、12.5、6.25、3.125、1.562、0.781 μmol/L)。用分化培养基分别配制0.781、1.562、3.125、6.25、12.5、25、50、100 μmol/L的毛蕊异黄酮溶液,将配制好的毛蕊异黄酮溶液加入分化培养基中培养6 h后,加入40 mg/mL D-gal造模剂,共孵育48 h,孵育完成后进行CCK-8测试。

1.11.4 CCK-8细胞增殖实验

CCK-8细胞增殖实验以每毫升1×10^4个细胞接种于96孔板中,待细胞贴壁并完成分化后,每组设置6个复孔,孵育48 h后,于避光条件下每孔加入10 μL CCK-8检测溶液并置于37 ℃、5% CO_2培养箱中孵育30 min,使用酶标仪在450 nm波长下测定各孔吸光度值(A)。根据测定结果计算细胞存活率,用于筛选最佳造模浓度。

1.11.5 RT-qPCR法检测*JUN*基因mRNA的表达

将C2C12细胞接种于6孔板中,用含2%马血清的DMEM分化培养基,培养5天,通过显微镜下观察,待肌管形成率大于80%,分别设置空白组,造模组(40 mg/mL D-gal),毛蕊异黄酮给药组(40 mg/mL D-gal+12.5、6.25、3.125 μmol/L),每孔接种1×10^{5}个细胞,置于37 ℃、5% CO_2培养箱中孵育48 h,弃去上清。用Trizol法提取细胞总RNA,使用核酸蛋白定量仪测定其浓度及纯度。将RNA进行逆转录,得到cDNA。按照实时荧光定量PCR预混液BlasTagT™ 2X说明书配制qPCR反应体系,以*GAPDH*为内参基因,使用实时荧光定量PCR仪检测*JUN*的mRNA表达水平。qPCR引物委托生工生物工程股份有限公司合成,引物及内参序列见表4。

表4 RT-qPCR实验用引物及内参序列

Table 4 Primers and internal reference sequences of qPCR

引物	F/R	序列(5′-3′)
JUN	F	GCC AGG TCG GCA GTA TAG TC
	R	GGA CTC TGC CAC TTG TCT CC
GAPDH	F	GAC ATG CCG CCT GGA GAA AC
	R	AGC CCA GGA TGC CCT TTA GT

2 实验结果

2.1 SQDBT活性成分与靶点获取

以TCMSP(OB≥30%、DL≥0.18)与BATMAN-TCM(Score cutoff=30, Adjusted P_value cutoff=0.05)数据库分别筛选SQDBT中十味药的活性成分,对重复成分进行剔除并取并集后,共得到176个活性成分,其中黄芪22个、党参26个、白术3个、茯苓15个、甘草80个、当归2个、川芎6个、熟地黄1个、白芍10个、肉桂11个;共纳入2 879个靶点,其中黄芪435个、党参222个、白术22个、茯苓23个、甘草1 763个、当归74个、川芎63个、熟地黄28个、白芍121个、肉桂128个,将上述化合物靶点合并剔除重复后,获得预测的SQDBT作用靶点316个。

2.2 肌少症疾病靶点获取与筛选

依据OMIM、GeneCards和GEO三个数据库筛选疾病靶点,其中OMIM和GeneCards筛选出402个,GEO筛选出14 636个,共15 038个,将获得的疾病靶点剔除重复后,共得到14 778个疾病靶点。

2.3 SQDBT与肌少症疾病共有靶点的获取

将剔除重复后的SQDBT药物靶点316个和肌少症疾病靶点14 778个导入Venny 2.1中,预测肌少症的SQDBT治疗作用靶点个数,得到交集靶点共246个(如图1)。

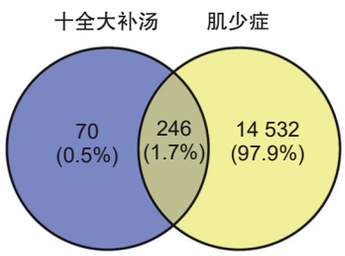


图1 SQDBT药物靶点与肌少症疾病靶点的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of SQDBT drug targets and sarcopenia disease targets

2.4 蛋白质相互作用网络结果分析

为了进一步探索SQDBT改善肌少症潜在靶点的重要性,利用String数据库,对246个SQDBT改善肌少症潜在靶点进行蛋白相互作用分析,构建蛋白相互作用网络,并通过Cytoscape 3.10.0软件进行分析,得到244个节点,5 670条边连线。为了进一步筛选蛋白质相互作用网络中的核心靶点,根据Centiscape 2.2插件,以Betweenness unDir, Closeness unDir, Degree unDir筛选,结果显示,度值排名前10的靶点为蛋白激酶Bα(v-akt Murine Thymoma Viral Oncogene Homolog 1, *AKT1*)、白细胞介素-6(Interleukin-6, *IL*-6)、肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factor, *TNF*)、胰岛素(Insulin, *INS*)、白细胞介素-1β(Interleukin-1 beta, *IL1B*)、肿瘤蛋白p53(Tumor Protein 53, *TP*53)、前列腺素内过氧化物合酶2(Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2, *PTGS*2)、半胱天冬蛋白酶3(Caspase 3, *CASP*3)、原癌基因(Jun Proto-Oncogene, *JUN*)、信号转导和转录激活因子3(Signal Transducer and Activator of Transcription 3, *STAT*3),说明这些核心靶点在SQDBT改善肌少症的潜在机制中发挥着重要作用(如图2所示)。

2.5 GO与KEGG信号通路富集分析

为了揭示SQDBT改善肌少症潜在靶点的

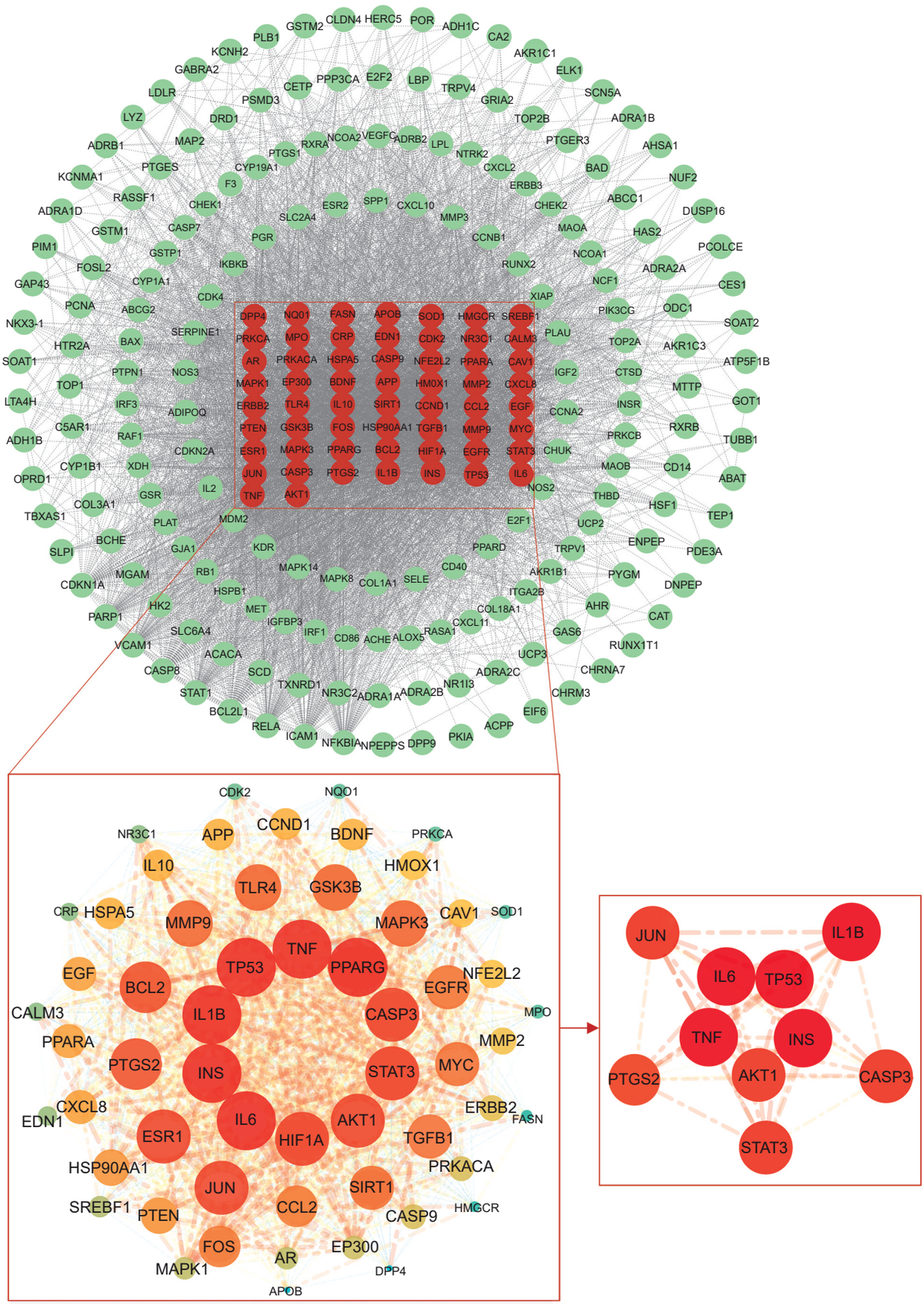


图2 SQDBT药物靶点-肌少症疾病靶点PPI网络图

Fig. 2 PPI network diagram of SQDBT drug targets and sarcopenia disease targets

生物学功能,使用DAVID数据库进行GO和KEGG通路富集分析。GO富集结果显示,共筛选BP 932条,CC 105条,MF 238条,如图3所示,BP主要涉及对外源刺激的反应(Response to Xenobiotic Stimulus)、基因表达的正向调控(Positive Regulation of Gene Expression)、DNA模板转录的正向调控(Positive Regulation of DNA-templated Transcription)等;CC主要涉及细胞外空间(Extracellular Space)、细胞质基质(Cytosol)、细胞质(Cytoplasm)等;MF主要涉及蛋白质结合(Protein Binding)、蛋白质同源二聚化活性(Protein Homodimerization Activity)、转录共激活因子结合(Transcription Coactivator Binding)等功能,根据基因数目可视化前10条信息,说明十全大补汤改善肌少症可能和以上的生物过程相关。

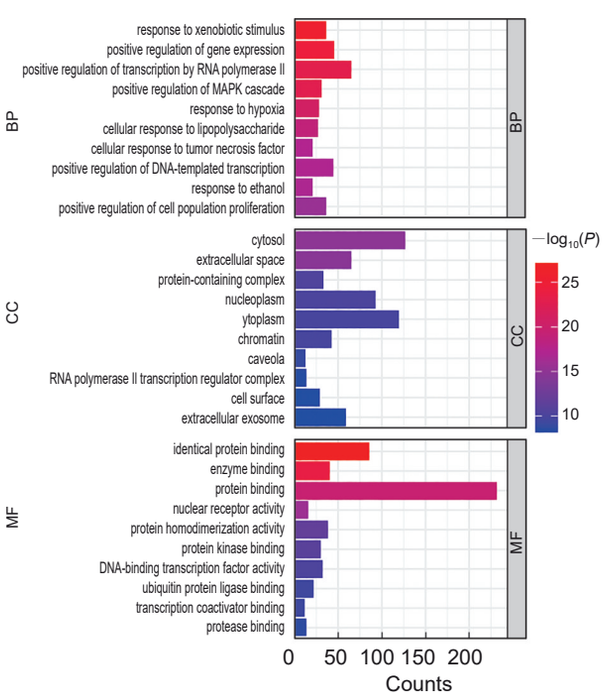


图3 SQDBT治疗肌少症靶点GO富集条形图(前10)

Fig. 3 GO enrichment bar chart of SQDBT targets for sarcopenia treatment (Top 10)

KEGG通路富集到188条,如图4所示,前15位分别为EGFR-TKI耐药性(EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance)、白细胞介素-17(IL-17 signaling pathway)、肿瘤坏死因子(TNF signaling pathway)、p53蛋白(p53 signaling pathway)、Toll样受体信号通路(Toll-like receptor signaling pathway)、缺氧诱导因子-1(HIF-1 signaling pathway)、Th17细胞分化(Th17 cell differentiation)、FoxO信号通路(FoxO signaling pathway)、细胞衰老(Cellular senescence)、细胞凋亡(Apoptosis)、胰岛素抵抗(Insulin resistance)、鞘脂信号通路(Sphingolipid signaling pathway)、胰岛素通路(Insulin signaling pathway)、丝裂原活化蛋白激酶通路(MAPK signaling pathway)、PI3K-Akt信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)的相关通路为主。

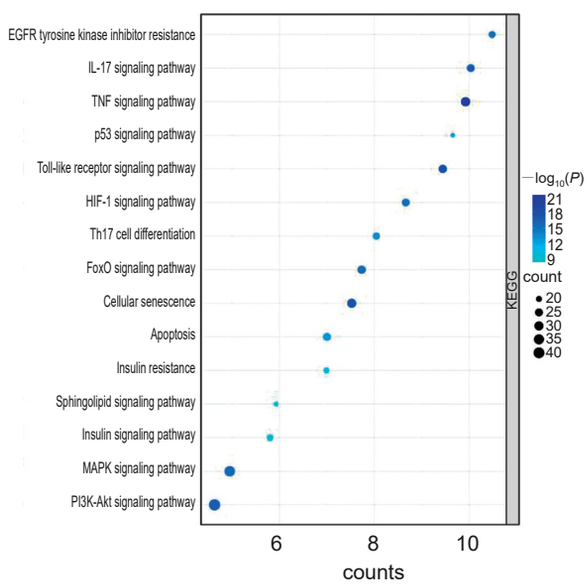


图4 SQDBT治疗肌少症靶点KEGG富集气泡图(前15)

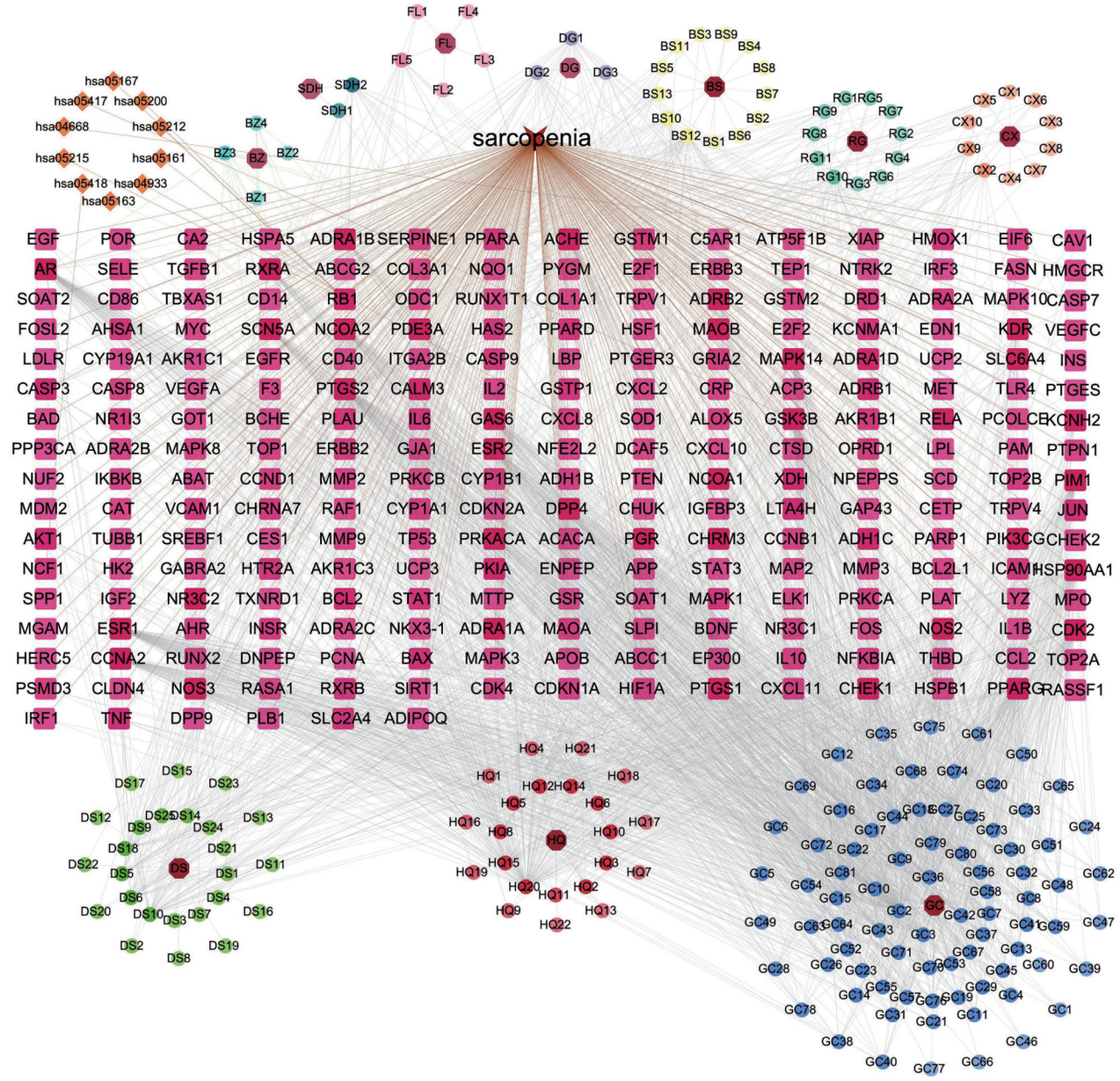
Fig. 4 KEGG enrichment bubble chart of SQDBT targets for sarcopenia treatment (Top 15)

2.6 “药物-化合物-疾病-靶点”网络拓扑学分析结果

“药物-化合物-疾病-靶点”网络图包含443个节点和2 717条边。其中Degree值越大,节点越大。通过网络拓扑学分析表明SQDBT通过多靶点、多通路的方式改善肌少症,如图5所示。

2.7 通过机器学习挖掘SQDBT干预肌少症的关键基因

通过机器学习筛选出SQDBT干预肌少症的99个差异基因,如图6所示。在RF算法中得出*JUN*、*CASP3*、*IL6*、*PTGS2*、*AKT1*、*INS*、*TNF*、*STAT3*、*IL1B*、*TP53*作为潜在核心靶点;在SVM算法中识别出了8个潜在核心靶点,包



注:V形表示疾病,正方形表示药物与疾病的潜在靶点,八边形表示SQDBT10种药材名称的缩写(甘草GC、黄芪HQ、党参DS、白术BZ、熟地黄SDH、当归DG、川芎CX、白芍BS、茯苓FL、肉桂RG)。圆形表示SQDBT活性化合物(以十全大补汤所含药材拼音首字母和数字编号表示),菱形代表KEGG信号通路。

Note: The V-shaped node represents the disease; squares represent potential targets of drugs and diseases; octagons represent abbreviations for the 10 medicinal materials in SQDBT (Glycyrrhizae Radix et Rhizoma: GC, Astragali Radix: HQ, Codonopsis Radix: DS, Atractylodis Macrocephalae Rhizoma: BZ, Rehmanniae Radix Preparata: SDH, Angelicae Sinensis Radix: DG, Chuanxiong Rhizoma: CX, Paeoniae Radix Alba: BS, Poria: FL, Cinnamomi Cortex: RG). Circles represent active compounds of SQDBT (labeled with the pinyin initials of the medicinal materials in SQDBT and numerical serial numbers). Diamonds represent KEGG signaling pathways.

图5 “药物-化合物-疾病-靶点”PPI网络图

Fig. 5 PPI network diagram of "drug-compound-disease-target"

括 *STAT3*、*CASP3*、*TNF*、*IL1B*、*TP53*、*PTGS2*、*JUN*、*INS*;LASSO算法预测出3个潜在核心靶点 *CASP3*、*IL6*、*JUN*,通过绘制韦恩图获得交集靶点,*CASP3*、*JUN*为关键基因,如图7所示。

2.8 SQDBT活性化合物CI筛选结果

为了进一步筛选SQDBT活性化合物,以贡献指数算法(CI)计算得到6个关键化合物,包括槲皮素(Quercetin)、山柰酚(Kaempferol)儿茶素

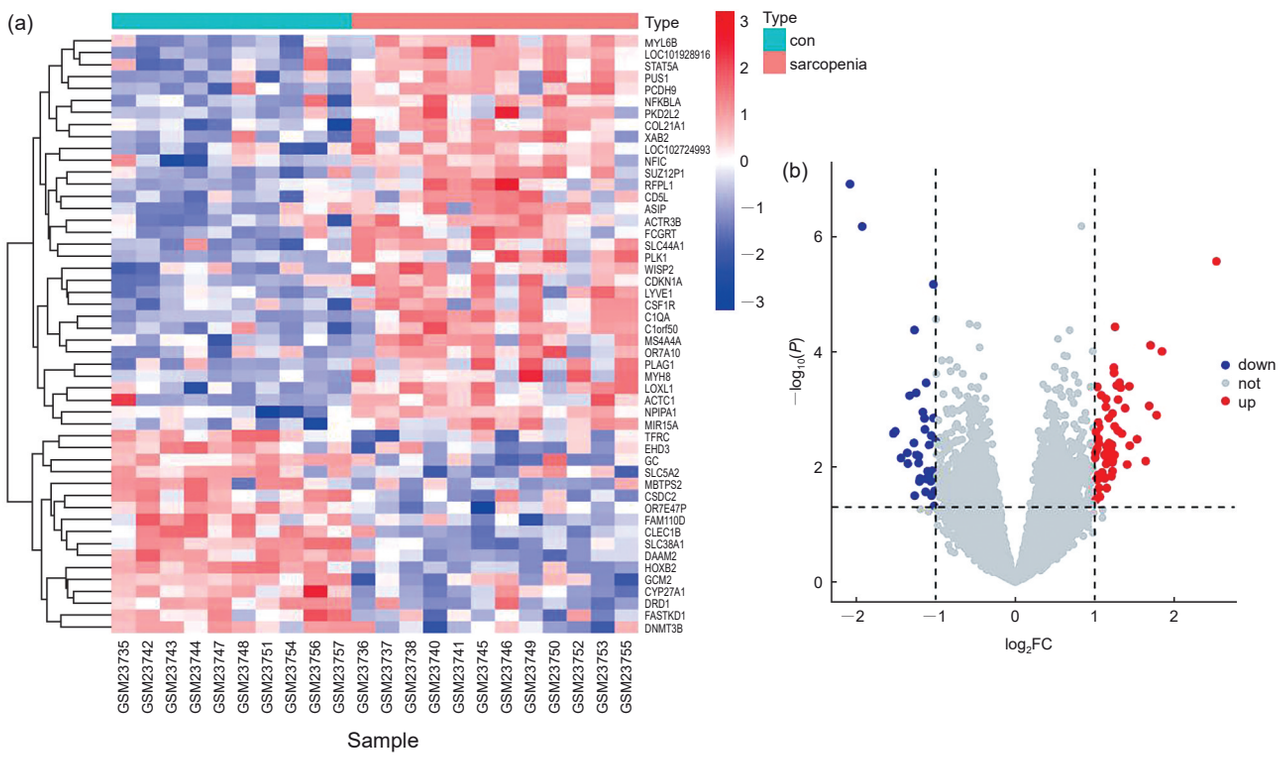


图6 差异基因表达的热图(a)及火山图(b)

(热图显示的差异基因为前50个。)

Fig. 6 Heatmap (a) and volcano plot (b) of differentially expressed genes

(The heatmap displays 50 differentially expressed genes.)

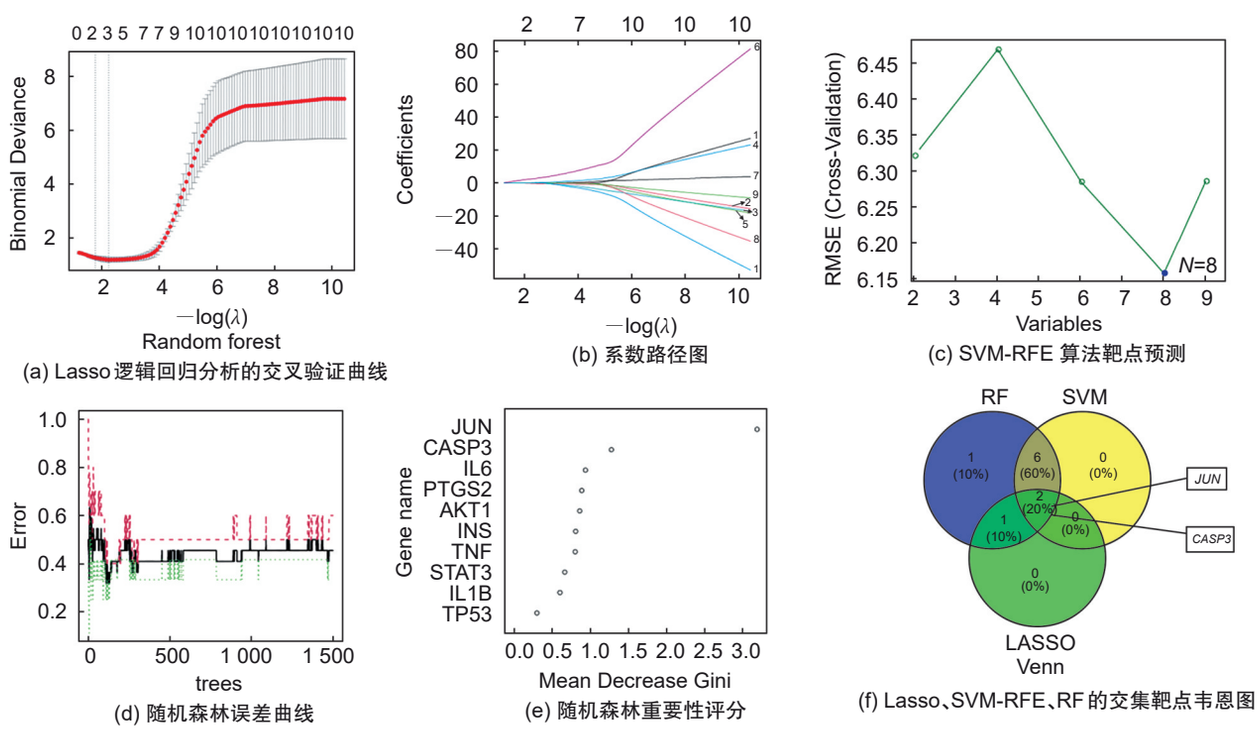


图7 机器学习预测关键基因

Fig. 7 Prediction of core genes by machine learning

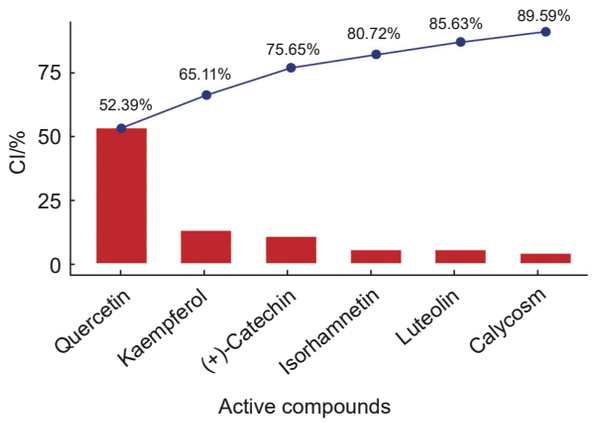


图8 SQDBT活性化合物的CI和累计CI

Fig. 8 Contribution Index (CI) and cumulative contribution index of active compounds in SQDBT

((+)-Catechin)、异鼠李素(Isorhamnetin)、木犀草素(Luteolin)、毛蕊异黄酮(Calycosin),这些化合物对改善肌少症具有显著的贡献,累计贡献指数(Accumulate CI)为89.59%,如图8所示。

2.9 关键成分及关键基因的分子对接

以SQDBT的6种活性化合物(槲皮素、山柰酚、儿茶素、异鼠李素、木犀草素、毛蕊异黄酮)为小分子配体,以机器学习筛选出的两个关键基因(*JUN*、*CASP3*)作为受体蛋白,进行分子对接,如图9所示,结合能均小于−20.92 kJ/mol(表5)。

2.10 基于D-半乳糖诱导的C2C12衰老成肌细胞的关键成分及关键靶点的作用验证

毛蕊异黄酮为十全大补汤中黄芪药材的专

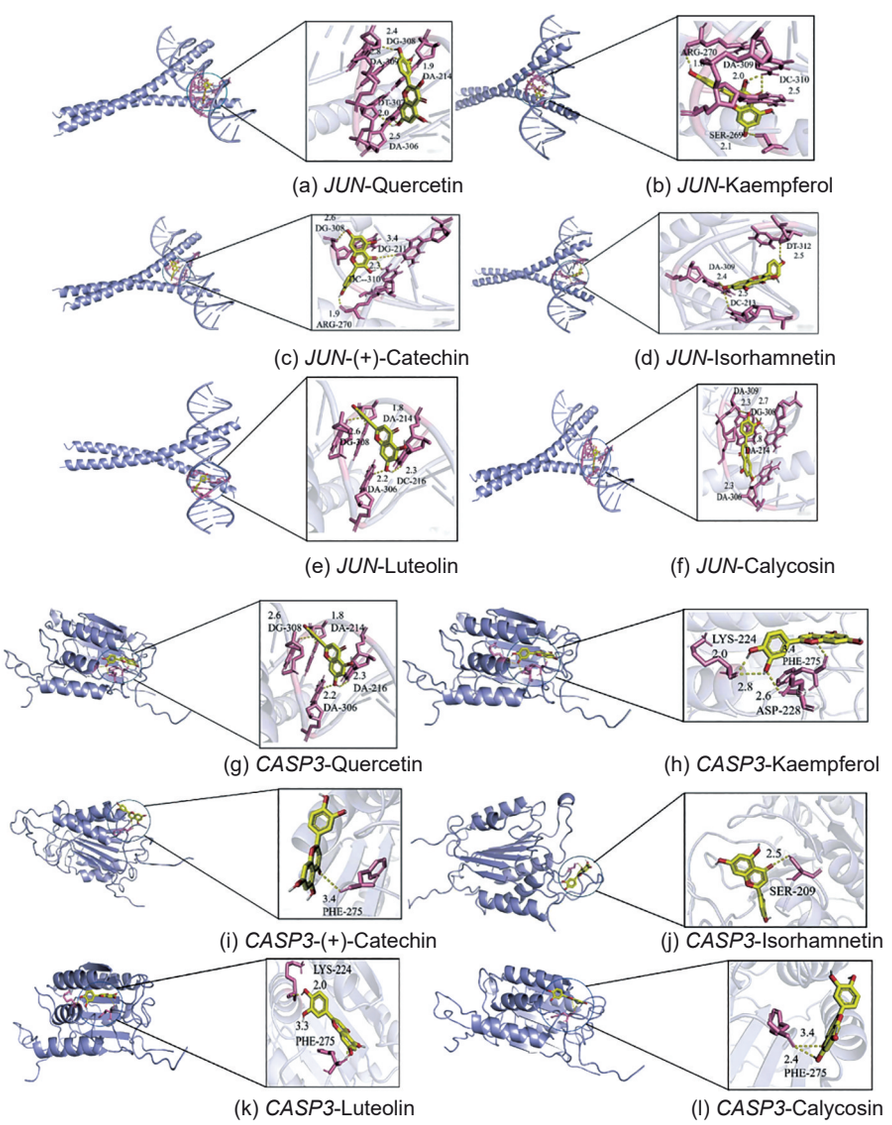


图9 *JUN*和*CASP3*与6个化合物的分子对接示意图

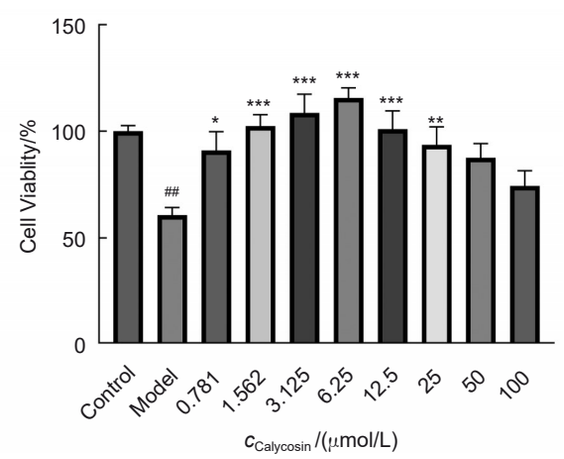
Fig. 9 Schematic diagram of molecular docking between *JUN* and *CASP3* and 6 compounds

属性特征成分之一,且分子对接结果显示,毛蕊异黄酮与JUN的结合能为−33.47 kJ/mol,以40 mg/mL D-gal构建C2C12衰老成肌细胞模型,设置不同浓度的毛蕊异黄酮(0.781 μmol/L~100 μmol/L),CCK-8结果显示,模型组细胞存活率显著降低($P<0.01$),而毛蕊异黄酮可显著增加细胞存活率,其中以6.25 μmol/L的改善作用最为显著($P<0.001$)。

表5 SQDBT干预肌少症关键成分和靶点的分子对接信息

Table 5 Docking information between key components and targets of SQDBT on sarcopenia

蛋白受体	小分子配体	结合能/(kJ•mol^{-1})
JUN	Quercetin	−33.89
	Kaempferol	−39.33
	(+)-Catechin	−38.49
	Isorhamnetin	−31.80
	Luteolin	−33.89
	Calycosin	−33.47
CASP3	Quercetin	−28.87
	Kaempferol	−28.87
	(+)-Catechin	−28.87
	Isorhamnetin	−29.29
	Luteolin	−28.87
	Calycosin	−28.87



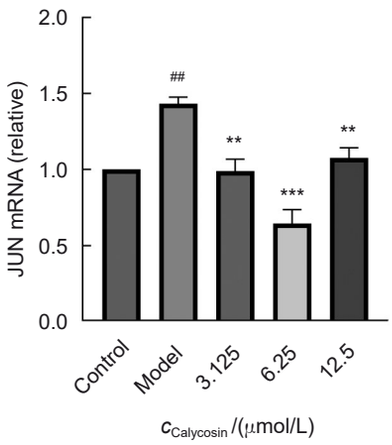
注:与Control组比较,$^{\#\#}P<0.01$;与Model组比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$。

Note: Compared with the Control group, $^{\#\#}P<0.01$; compared with the Model group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

图10 CCK-8法的细胞存活率结果图

Fig. 10 Results of cell viability analysis by CCK-8 Assay

RT-qPCR实验结果表明,与对照组相比,40 mg/mL D-半乳糖处理组细胞的*JUN*基因相对表达量显著升高($P<0.01$),毛蕊异黄酮显著降低了*JUN*的相对表达,其中以6.25 μmol/L毛蕊异黄酮作用最为显著(图11),表明6.25 μmol/L毛蕊异黄酮可特异性调控C2C12细胞中*JUN*基因的表达。



注:与Control组比较,$^{\#\#}P<0.01$;与Model组比较,$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$。

Note: Compared with the Control group, $^{\#\#}P<0.01$; compared with the Model group, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$.

图11 JUN基因的RT-qPCR检测结果图

Fig. 11 Results of RT-qPCR detection of JUN gene in C2C12 cells

3 讨论

当前人口老龄化进程持续加快,老年人口高龄化特征愈发显著,追求健康生活、积极预防老年性疾病已成为老年人的普遍共识。肌少症作为与衰老相关的常见重要老年综合征,发病率较高,不仅严重危害老年人身体健康,更是导致老年失能的关键诱因,如今已成为不容忽视的公共卫生问题[15]。研究治疗肌少症的药物,对推进健康中国建设具有重要意义。本研究针对十全大补汤治疗肌少症的核心靶点及分子调控机制尚不明确这一问题,借助网络药理学联合机器学习、贡献指数算法与细胞实验验证,从成分筛选、靶点匹配、通路富集到实验验证,系统揭示了SQDBT治疗肌少症的潜在作用机制,为中医药干预该疾病提供理论依据。本研究中筛选出的关键靶点JUN是AP-1(激活蛋白-1)转录因子家族的核心,JUN参与细胞增殖、分化、凋亡及免疫应答等基础过程,对骨骼肌发育与稳态维持具有重要作用;而在衰老及疾病状态下,JUN常被氧化应激、炎症

信号等激活,其异常高表达会驱动促炎因子、凋亡相关基因及纤维化分子的转录,成为肌少症等衰老相关疾病的重要调控因子,JUN的异常激活与衰老骨骼肌的代谢紊乱密切相关。香港中文大学王华婷教授团队的研究通过单细胞RNA测序(snRNA-seq)与染色质可及性测序(snATAC-seq)联合分析的多组学技术,在人类骨骼肌衰老研究中揭示了JUN转录因子在肌少症发生发展中的核心调控作用[16],明确了JUN在肌少症病理机制中的多维度调控作用,为后续靶向JUN及其下游信号通路的肌少症干预策略提供了重要分子靶点与实验依据。CASP3是TNF-α介入肌少症的关键执行分子,其通过TNF-α/CASP8/CASP3/GSDME信号轴激活骨骼肌细胞焦亡,直接导致肌纤维破坏、炎症微环境加剧,最终驱动肌肉萎缩与功能衰退。该研究进一步验证,CASP3特异性抑制剂可阻断这一通路,逆转肌少症相关表型,提示CASP3为炎症相关肌少症的潜在治疗靶点[17]。

本研究中筛选出的关键成分之一槲皮素,是一种黄酮类化合物,具有抗氧化、抗肿瘤和免疫调节等多种药理作用[18],可通过减少过氧化氢生成和提高线粒体抗氧化能力增加成肌细胞活力,抑制细胞凋亡,防止肌肉萎缩[19]。山柰酚是一种常见的天然黄酮类化合物,具有抗炎、抗病毒、抗癌等多种生物活性[20]。解灿灿等的研究表明山柰酚能够降低TNF-α诱导的成肌细胞中促炎因子和趋化因子表达,发挥抗炎作用[21]。儿茶素有益于骨骼肌的表现、肌肉萎缩和运动[22-23],并防止肌肉减少症引起的继发性损伤,如恶病质、虚弱和肌肉减少性肥胖。异鼠李素可抑制活性氧介导的缺氧诱导因子1α积累[24]。毛蕊异黄酮具有抗自噬、抗凋亡和抗炎作用,可改善肾脏疾病合并肌肉衰减,同时抑制TNF-α表达[25]。以上化合物在肌少症治疗中发挥关键作用,具有较大应用潜力。

4 结论

本研究采用网络药理学与分子对接技术发现十全大补汤通过槲皮素、山柰酚、儿茶素、异鼠李素、木犀草素、毛蕊异黄酮6个关键化合物发挥治疗肌少症的作用,累计CI达89.59%;这些成分与CASP3、JUN的结合能均小于−20.92 kJ/mol。D-半乳糖诱导的C2C12成肌细胞衰老实验证实,毛蕊异黄酮可显著提高D-半乳糖诱导C2C12衰老成肌细胞的存活率,并有效下调JUN基因的表达。然而,本研究尚存在一定的局限性。虽然预测十全大补汤治疗肌少症可通过多通路发挥作用,但其具体作用机制尚未完全阐明,其余成分与关键靶点的作用还需进一步实验验证,以及6种化合物是否可形成一定比例的组合物来干预肌少症仍值得深入研究;同时需要结合现代分子生物学技术,深入挖掘相关信号通路与作用靶点,为肌少症干预靶点及创新药物研制提供坚实的科学依据。

参考文献:

[1] 海鹏程, 梁艳虹.《老年人肌少症门诊管理规范中国专家共识(2024版)》解读[J]. 河北医科大学学报, 2025, **46**(5): 502-506. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.05.002.
Hai P C, Liang Y H. Interpretation of China Expert Consensus (2024 Edition) on Outpatient Management Norms of Myopenia in the Elderly[J]. *J Hebei Med Univ*, 2025, **46**(5): 502-506. DOI: 10.3969/j. issn. 1007-3205.2025.05.002.

[2] Palus S, Springer J I, Doehner W, *et al*. Models of Sarcopenia: Short Review[J]. *Int J Cardiol*, 2017, **238**: 19-21. DOI:10.1016/j.ijcard.2017.03.152.

[3] 何盼, 刘月涛, 杜冠华, 等. 肌少症研究进展[J]. 神经药理学报, 2020, **10**(1): 47-53. DOI: 10.3969/j. issn. 2095-1396.2020.01.010.
He P, Liu Y T, Du G H, *et al*. Research Advances in Sarcopenia[J]. *Acta Neuropharmacologica*, 2020, **10**(1): 47-53. DOI:10.3969/j.issn.2095-1396.2020.01.010.

[4] 王珂欣, 游志业, 单晓茜, 等. 网络药理学在中医药防治呼吸系统疾病中的应用与创新[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2025, **48**(2): 302-313. DOI: 10.13451/j. sxu. ns.2024176.
Wang K X, You Z Y, Shan X Q, *et al*. Application and Innovation of Network Pharmacology in Prevention and Treatment of Respiratory Diseases with Traditional Chinese Medicine[J]. *J Shanxi Univ Nat Sci Ed*, 2025, **48**(2): 302-313. DOI:10.13451/j.sxu.ns.2024176.

[5] 金雨萌, 李晖, 王传娜, 等. 网络药理学结合斑马鱼模型研究参苓白术丸改善肌少症的关键活性成分 [J]. 山西大学学报(自然科学版), 2026, **49**(3): 451-467. DOI: 10.13451/j.sxu.ns.2026003.

Jin Y M, Li H, Wang C N, *et al*. Study on Key Active Components of Shenling Baizhu Pill in Improving Sarcopenia Based on Network Pharmacology Combined with Zebrafish Model[J]. *J Shanxi Uni Nat Sci Ed*, 2026, **49**(3): 451−467. DOI: 10.13451/j.sxu.ns.2026003.

[6] 蒋佳慧, 陈扬波. 基于网络药理学探讨补中益气汤治疗肌少症的作用机制[J]. 中国现代医生, 2026, **64**(5): 63−68.
Jiang J H, Chen Y B. Exploring the Mechanism of Buzhong Yiqi Decoction in Treating Sarcopenia Based on Network Pharmacology[J]. *China Mod Dr*, 2026, **64**(5): 63−68.

[7] 刘钟元, 石龙, 颜鸿宇, 等. 基于网络药理学和实验验证探究黄精治疗肌少症的作用机制[J]. 中国医院药学杂志, 2025, **45**(23): 2691−2700. DOI: 10.13286/j. 1001-5213.2025.23.04.
Liu Z Y, Shi L, Yan H Y, *et al*. The Mechanism of *Polygonatum sibiricum* in Treating Sarcopenia *via* Network Pharmacology and Experimental Validation[J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2025, **45**(23): 2691−2700. DOI: 10.13286/j.1001-5213.2025.23.04.

[8] 尹相锋. 基于网络药理学探讨十全大补汤促进髋膝关节置换术后康复的作用机制及临床疗效观察[D]. 南京: 南京中医药大学, 2025. DOI: 10.27253/d.cnki.gnjzu.2025.001099.
Yin X F. Exploring the Mechanism and Clinical Efficacy of Shiquandabu Decoction in Promoting Rehabilitation after Hip and Knee Arthroplasty Based on Network Pharmacology[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2025. DOI:10.27253/d.cnki.gnjzu.2025.001099.

[9] Ru J L, Li P, Wang J N, *et al*. TCMSP: A Database of Systems Pharmacology for Drug Discovery from Herbal Medicines[J]. *J Cheminf*, 2014, **6**(1): 13. DOI: 10.1186/1758-2946-6-13.

[10] 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. DOI: 10.1080/00498254.2016.1179821.

[11] 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. DOI: 10.1021/mp300198d.

[12] 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**(suppl_1): D433−D437. DOI: 10.1093/nar/gki005.

[13] 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. DOI: 10.1186/gb-2003-4-5-p3.

[14] Kim S, Chen J, Cheng T J, *et al*. PubChem 2019 Update: Improved Access to Chemical Data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(D1): D1102−D1109. DOI: 10.1093/nar/gky1033.

[15] 何盼, 陈磊, 连让平, 等. 中医药防治肌少症的研究进展[J]. 中草药, 2025, **56**(10): 3729−3738. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.029.
He P, Chen L, Lian R P, *et al*. Research Progress on Traditional Chinese Medicine in Treatment of Sarcopenia[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2025, **56**(10): 3729−3738. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.029.

[16] Li Y, Li C H, Zhou Q, *et al*. Multiomics and Cellular Senescence Profiling of Aging Human Skeletal Muscle Uncovers Maraviroc as a Senotherapeutic Approach for Sarcopenia[J]. *Nat Commun*, 2025, **16**: 6207. DOI:10.1038/s41467-025-61403-y.

[17] Wu J Y, Lin S M, Chen W X, *et al*. TNF-α Contributes to Sarcopenia through Caspase-8/Caspase-3/GSDME-mediated Pyroptosis[J]. *Cell Death Discov*, 2023, **9**: 76. DOI:10.1038/s41420-023-01365-6.

[18] 杨颖, 王芸芸, 蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展[J]. 特种经济动植物, 2020, **23**(5): 24−28. DOI: 10.3969/j.issn.1001-4713.2020.05.009.
Yang Y, Wang Y Y, Jiang Q C. Research Progress on Pharmacological Effects of Quercetin[J]. *Spec Econ Anim Plant*, 2020, **23**(5): 24−28. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-4713.2020.05.009.

[19] Chen C, Yang J S, Lu C C, *et al*. Effect of Quercetin on Dexamethasone-induced C2C12 Skeletal Muscle Cell Injury[J]. *Molecules*, 2020, **25**(14): 3267. DOI:10.3390/molecules25143267.

[20] Devi K P, Malar D S, Nabavi S F, *et al*. Kaempferol and Inflammation: From Chemistry to Medicine[J]. *Pharmacol Res*, 2015, **99**: 1−10. DOI:10.1016/j.phrs.2015.05.002.

[21] 解灿灿, 郝婷婷, 吴春梅, 等. 山柰酚对TNF-α/INF-γ诱导C2C12细胞炎症及成肌分化的作用[J]. 中成药, 2024, **46**(9): 3115−3119. DOI: 10.3969/j. issn. 1001-1528.2024.09.045.
Xie C C, Hao T T, Wu C M, *et al*. Effects of Kaempferol on Inflammation and Myogenic Differentiation of C2C12 Cells Induced by TNF-α/INF-γ[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2024, **46**(9): 3115−3119. DOI: 10.3969/j.

issn.1001-1528.2024.09.045.

[22] Li P H, Liu A L, Xiong W, *et al*. Catechins Enhance Skeletal Muscle Performance[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, **60**(3): 515−528. DOI:10.1080/10408398.2018.1549534.

[23] Luk H Y, Appell C, Chyu M C, *et al*. Impacts of Green Tea on Joint and Skeletal Muscle Health: Prospects of Translational Nutrition[J]. *Antioxidants*, 2020, **9**(11): 1050. DOI:10.3390/antiox9111050.

[24] Jiang H, Yamashita Y, Nakamura A, *et al*. Quercetin and Its Metabolite Isorhamnetin Promote Glucose Uptake through Different Signalling Pathways in Myotubes [J]. *Sci Rep*, 2019, **9**: 2690. DOI:10.1038/s41598-019-38711-7.

[25] Hu R, Wang M Q, Liu L Y, *et al*. Calycosin Inhibited Autophagy and Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease Skeletal Muscle Atrophy by Regulating AMPK/SKP2/CARM1 Signalling Pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, **24**(19): 11084−11099. DOI:10.1111/jcmm.15514.