

刘晨,李诗怡,尹晓晓,等. 基于网络药理学和行为学探讨“黄芪-山药”对小鼠癌因性疲乏的作用机制[J]. 中国实验动物学报, 2025, 33(3): 374-387.

LIU C, LI S Y, YIN X X, et al. Effect of “Astragalus-Chinese yam” on cancer-induced fatigue in mice based on network pharmacology and behavior [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2025, 33(3): 374-387.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2025.03.006

# 基于网络药理学和行为学探讨“黄芪-山药” 对小鼠癌因性疲乏的作用机制

刘晨<sup>1</sup>, 李诗怡<sup>1</sup>, 尹晓晓<sup>1</sup>, 孔紫涵<sup>1</sup>, 刘清华<sup>2</sup>, 李洪利<sup>3</sup>, 尹崇高<sup>1\*</sup>

(1. 山东第二医科大学护理学院, 山东 潍坊 261053; 2. 山东第二医科大学基础医学院, 山东 潍坊 261053; 3. 山东第二医科大学医学实验研究中心, 山东 潍坊 261053)

**【摘要】** 目的 探讨“黄芪-山药”治疗小鼠癌因性疲乏(cancer-related fatigue, CRF)的作用机制。方法 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库获取“黄芪-山药”的药物活性成分及相关靶点;采用 GeneCards 数据库搜索 CRF 相关靶点,将交集靶点输入到 David 数据库进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。通过 Cytoscape 3.10.2 软件构建“药物-活性成分-交集靶点-疾病”网络图,构建蛋白质互作网络(protein-protein interaction networks, PPI)并根据度值选择前5位的核心靶点。应用 Autodock Vina 1.2.3 软件进行分子对接模拟验证。将25只小鼠按照1:4随机分为空白组和造模组,造模组使用 Lewis 肺癌细胞构建 CRF 模型成功后随机分为:模型组、山药组(0.2 g/kg)、黄芪组(0.6 g/kg)及黄芪-山药组(0.3 + 0.1 g/kg),每组5只。连续灌胃14 d,每天2次。取材前对小鼠进行抓力检测和力竭游泳实验,实验结束后取小鼠腓肠肌称重,苏木素-伊红(HE)染色处理后观察肌纤维形态。**结果** 通过网络药理学平台共筛选出“黄芪-山药”有效活性成分共23个,药物-疾病交集靶点199个,靶点主要通过细胞(质、膜、核)等参与蛋白质磷酸化等生物学过程,发挥蛋白质结合等分子功能。参与癌症信号通路(pathway in cancer),在磷脂酰肌醇3-激酶-蛋白激酶B信号通路(phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B signaling pathway, PI3K-Akt)等155条信号通路作用于CRF。丝氨酸/苏氨酸激酶1(serine/threonine kinase 1, AKT1),肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF),表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR),B细胞淋巴瘤2(B-cell lymphoma 2, BCL2),半胱天冬酶-3(caspase 3, CASP3)是“黄芪-山药”作用于CRF的关键靶点。结合靶点数量最多的活性成分槲皮素和薯蓣皂苷与5个核心靶点的结合能均 < -5.0 kJ/mol,说明配体与受体结合紧密。与模型组相比,山药组、黄芪组的小鼠抓力增强,游泳时间延长,小鼠腓肠肌的体积、质量增大,肌纤维排列整齐、边界清晰,且“黄芪-山药”效果更为明显。**结论** “黄芪-山药”的应用通过多靶点多通路治疗CRF,增强小鼠肌力和耐力,改善了小鼠腓肠肌体积、质量降低和肌肉萎缩的现象,缓解小鼠的CRF状况。

**【关键词】** 癌因性疲乏;网络药理学;山药;黄芪;分子对接

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2025)03-0374-14

## Effect of “Astragalus-Chinese yam” on cancer-induced fatigue in mice based on network pharmacology and behavior

**【基金项目】** 山东省自然科学基金(ZR2022MH311),山东省中医药科技项目(Q-2023012)。

Funded by Project of Shandong Province Natural Science Foundation (ZR2022MH311), Shandong Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project (Q-2023012).

**【作者简介】** 刘晨,女,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤护理。Email:LC17860692292@163.com

**【通信作者】** 尹崇高,男,博士,教授,博士生导师,研究方向:肿瘤护理。Email:yinchg@sdsu.edu.cn

LIU Chen<sup>1</sup>, LI Shiyi<sup>1</sup>, YIN Xiaoxiao<sup>1</sup>, KONG Zihan<sup>1</sup>, LIU Qinghua<sup>2</sup>, LI Hongli<sup>3</sup>, YIN Chonggao<sup>1\*</sup>

(1. School of Nursing, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China;

2. School of Basic Medicine, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China;

3. Medicine Research Center, Shandong Second Medical University, Weifang 261053, China)

Corresponding author: YIN Chonggao. E-mail: yinchg@sdsu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the mechanism of action of the Astragalus-Chinese yam combination in treating cancer-related fatigue (CRF) in mice. **Methods** The active components and related targets of Astragalus-Chinese yam were obtained from the traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform. CRF-associated targets were identified using the GeneCards database. Intersecting targets were analyzed using the DAVID database for gene ontology and kyoto encyclopedia of genes and genomes enrichment analyses. A network diagram depicting “drug-active component-intersecting targets-disease” was constructed using Cytoscape software, and a protein-protein interaction network was created to identify the top five core target proteins based on degree values. Molecular docking simulations were performed using Autodock Vina software. Twenty-five mice were divided randomly into a blank group and a modeling group in a 1 : 4 ratio. After successfully establishing the CRF model using Lewis lung cancer cells, mice in the modeling group were further divided into model, Chinese yam (0.2 g/kg), Astragalus (0.6 g/kg), and Astragalus-Chinese yam combination groups (0.3 + 0.1 g/kg) ( $n = 5$  mice per group). The treatments were administered by gavage twice daily for 14 consecutive days. Grip-strength and forced-swimming tests were conducted. The mice were then euthanized and tissues were collected. The gastrocnemius muscles were weighed and stained with hematoxylin and eosin to reveal the muscle fiber morphology. **Results** A total of 23 effective active components of Astragalus-Chinese yam were identified through network pharmacology analysis, with 199 intersecting drug-disease targets. These targets mainly participated in biological processes such as protein phosphorylation through cellular components (cytoplasm, membrane, nucleus) and performed molecular functions such as protein binding. A total of 155 signaling pathways, including pathway in cancer and the phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B signaling pathway, were involved in CRF. The critical targets of Astragalus-Chinese yam for CRF included serine/threonine kinase, tumor necrosis factor, epidermal growth factor receptor, B-cell lymphoma 2, and caspase 3. The active components quercetin and diosgenin interacted with the highest number of targets and demonstrated binding energies  $< -5.0$  kJ/mol with the five core targets, indicating strong ligand-receptor binding affinity. Mice in the Chinese yam and Astragalus groups exhibited increased grip strength and prolonged swimming times compared with the model group. Gastrocnemius muscle volume and mass were increased, with well-organized muscle fibers and clear boundaries, and the effects were even more pronounced in the Astragalus-Chinese yam combination group. **Conclusions** Astragalus-Chinese yam treats CRF via a multi-target, multi-pathway approach, enhancing muscle strength and endurance in mice, improving gastrocnemius muscle volume and mass, and alleviating muscle atrophy, thereby mitigating the associated symptoms of CRF in mice.

**【Keywords】** cancer-related fatigue; network pharmacology; Chinese yam; Astragalus; molecular docking  
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

癌因性疲乏 (cancer-related fatigue, CRF) 是癌症及其治疗最常见且最具有痛苦感的副作用之一,其总体发病率高达 52%,这一症状的产生源自放疗、体能下降等多种因素的综合影响,贯穿了肿瘤的发生、发展和治疗全过程<sup>[1-2]</sup>。目前,CRF 的治疗主要采用药物治疗和非药物治疗<sup>[3]</sup>,因此,迅速寻找有效的药物以缓解这一症状显得尤为重要。中药在辅助治疗 CRF 方面展

现了多途径、多靶点的优越性,取得了显著疗效。目前中药对 CRF 的作用研究主要是基于临床实验,仍需深入研究中药的作用机制,揭示其对 CRF 的疗效和机制。

黄芪 (Astragalus) 和山药 (Chinese yam) 均被认为是传统的药食同源中药,对人体长时间使用无害,兼具药物和食品的双重性质,主要通过食疗、食补和药膳等形式用于医疗保健<sup>[4]</sup>。山药属

于薯蓣科植物,具有扶正补气的功效,其块茎富含多种营养成分,如粘多糖、薯蓣皂苷等<sup>[5]</sup>。研究表明,参山药膳在缓解 CRF 方面具有独特的疗效<sup>[6]</sup>。黄芪则是豆科植物蒙古黄芪的干燥根,具备补气升阳、固表止汗以及利水消肿等功效<sup>[7-8]</sup>。作为传统的扶正药,黄芪被李时珍誉为“补药之长”。黄芪四君子汤在治疗脾胃气虚型 CRF 方面也取得了良好的临床效果<sup>[9]</sup>。已有研究表明,黄芪-山药配伍使用在补气升提等方面具有良好的临床疗效,能协同改善机体的基础代谢功能<sup>[10]</sup>。

目前关于“黄芪-山药”治疗 CRF 的机制尚未见报道,因此本研究使用网络药理学和分子对接探究“黄芪-山药”在治疗 CRF 中的作用并通过小鼠抓力检测和力竭游泳实验验证,为进一步促进药食同源药物在临床的使用提供理论和实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验动物

6 周龄雌性 SPF 级健康 C57BL/6 小鼠,25 只,体质量 20 ~ 25 g,购自潍坊医学院医学实验动物中心【SCXK(鲁)2020 0001】。环境温度在 22 ~ 26 °C,湿度 40% ~ 60%,12 h 光照昼夜交替,提供充足的食物和水饲养于潍坊医学院动物研究实验中心【SYXK(鲁)2019 0016】,本研究经潍坊医学院伦理委员会批准且所有操作均符合动物伦理学标准(2023SDL286)。

#### 1.1.2 细胞

Lewis 细胞购自普诺赛(货号:CL-0140),使用 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,在 37 °C、含 5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱中培养。

#### 1.1.3 主要试剂与仪器

山药粉(河南张宝山生物科技有限公司,SC12441088200683),黄芪粉(北京同仁堂,SC10334160331674),GAPDH 抗体(索莱宝,AC240320067),MF20 抗体(developmental studies hybridoma bank,AB\_2147781)。病理切片扫描仪(3D HISTECH,匈牙利),大小鼠抓力测试仪(众实迪创,ZS-ZL)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 筛选药物活性成分及预测作用靶点

通过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) 数据库(<http://tcm-sp-e.com/tcm-sp.php>),进行药物活性成分的检索,设定口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$  和类药性(drug-like properties, DL)  $\geq 0.18$  为筛选标准。进一步通过 Swiss Target Prediction 数据库得出有效的活性成分。随后,借助 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org>)检索“*Homo sapiens*”物种,以获取对应的靶蛋白的基因名,去重后得出黄芪和山药的有效活性成分的预测靶点。

#### 1.2.2 CRF 疾病靶点的获取

在 Genecards 数据库中搜集“cancer-related fatigue”,获取相关靶点,并去除重复基因,构建 CRF 靶点的数据集。

#### 1.2.3 药物与疾病交集靶点筛选

利用 Venny 2.1.0 工具,将黄芪和山药的有效活性成分的预测靶点与 CRF 靶点进行交集分析,得到“黄芪-山药”的有效活性成分与 CRF 的共同靶点。

1.2.4 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)富集分析

将交集靶点导入生物学信息注释数据库(DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/>)进行 GO 和 KEGG 富集分析。将  $P < 0.05$  的 GO 富集分析各项排名前 10 位条目及 KEGG 通路富集分析前 20 位条目导入微生信在线平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)进行可视化。

#### 1.2.5 构建“药物-活性成分-交集靶点-疾病”网络

Cytoscape 3.10.2 中输入:黄芪、山药及其有效活性成分、交集靶点和 CRF 靶点,构建“黄芪-山药”作用于 CRF 的网络图。

#### 1.2.6 蛋白质互作网络(protein-protein interaction networks, PPI)

将“黄芪-山药”与 CRF 交集靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org>),选择“*Homo sapiens*”进行分析,得到 PPI 核心网络图,并将结果导入 Cytoscape 3.9.1 软件。依据度值(degree)参数选取“黄芪-山药”作用于 CRF 的核心交集靶点。

### 1.2.7 分子对接

从 RCSB 蛋白数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 获取目标蛋白并下载其 PDB 文件。药物分子结构从 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载,使用 OpenBabel GUI 3.1.1 软件进行 PDB 格式转化。用 AutoDock Vina 1.2.3 进行分子对接,用 PyMol 2.5 进行可视化。

### 1.2.8 动物分组、造模及给药

将 25 只小鼠按照 1 : 4 随机分为空白组和造模组,造模组以小鼠 Lewis 肺癌细胞悬液 ( $5 \times 10^7/\text{mL}$ ) 小鼠右腋皮下注射。观察肿瘤生长情况,肿瘤生长到  $40 \sim 60 \text{ mm}^3$  于造模后第 7 天开始灌胃,随机将造模组分为山药组,黄芪组,黄芪-山药组,模型组,给药方案:给药剂量为山药 ( $0.2 \text{ g/kg}$ )、黄芪 ( $0.6 \text{ g/kg}$ ),黄芪-山药 ( $0.3 + 0.1 \text{ g/kg}$ ) 连续灌 14 d,每天灌胃 2 次;空白组及模型组予等量生理盐水灌胃,待小鼠最大肿瘤长度达  $1.5 \text{ cm}$  时结束实验。

### 1.2.9 小鼠抓力实验

根据大小鼠抓力测试仪说明书进行测定小鼠抓力峰值,每次小鼠测量重复 5 次,实验结束前 3 d,每日测量,并记录。

### 1.2.10 小鼠力竭游泳实验

在直径为  $45 \text{ cm}$ ,深度为  $45 \text{ cm}$  的圆桶, $25 \sim 27 \text{ }^\circ\text{C}$  的水温中进行游泳实验,小鼠尾端固定小鼠体质量 10% 的铅块并记录小鼠鼻尖没入水中 10 s 的力竭时间。

### 1.2.11 小鼠样本获取及苏木素-伊红(HE)染色

实验结束后,处死小鼠并取腓肠肌称重,通过 4% 多聚甲醛溶液固定、脱水,石蜡包埋、切片、染色后观察腓肠肌肌纤维形态。

### 1.2.12 Western Blot 检测肌纤维特异性蛋白表达

分别取各组腓肠肌组织  $30 \text{ mg}$ ,加入蛋白质裂解液裂解,使用二喹啉甲酸法 (bicinchoninic acid assay, BCA) 进行蛋白定量处理。检测组织中 MF20 表达水平,借助 Image J 2.14 进行图像分析。甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) ( $1 : 5000$ ), MF20 ( $1 : 73$ ), HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 抗体 ( $1 : 5000$ )。

## 1.3 统计学分析

数据分析选用 SPSS 26.0、Graph Pad Prism

8.0。结果以平均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用单因素方差分析进行多组间比较,  $P < 0.05$  为具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 筛选“黄芪-山药”的有效活性成分

经过 TC MSP 数据库的筛选并剔除无潜在靶点的成分后,得到了“黄芪-山药”的 23 个有效活性成分,其中山药有 9 个,黄芪有 14 个,见表 1。

### 2.2 获得“黄芪-山药”与 CRF 的共同靶点

通过 Genecards 数据库得到 CRF 的靶点有 7659 个,取交集后韦恩图结果显示,“黄芪-山药”与 CRF 之间存在 199 个共同作用靶点(见图 1)。这些靶点可能在“黄芪-山药”治疗 CRF 过程中扮演着重要角色。将 199 个交集靶点导入 Cytoscape 3.9.1 后构建的“药物-活性成分-交集靶点-疾病”网络图(见图 2),分析得出“黄芪-山药”与 CRF 交集靶点数目最多的有效活性成分分别为槲皮素和薯蓣皂苷,在 199 个交集靶点中,槲皮素与 CRF 的作用靶点有 157 个,薯蓣皂苷有 142 个(见表 2),说明槲皮素和薯蓣皂苷可能是在“黄芪-山药”药对在治疗 CRF 的过程中的重要有效活性成分。

### 2.3 交集靶点进行 GO 富集分析、KEGG 通路富集分析结果

通过对交集靶点进行 GO 分析,结果显示“黄芪-山药”与 CRF 的作用靶点主要涉及 75 项细胞组分,613 项生物过程和 115 项分子功能,通过细胞质、细胞膜及细胞核等细胞成分,参与了蛋白质磷酸化、信号转导以及细胞凋亡的负调控机制等生物学过程。这些成分在分子功能方面展现了多样性,包括蛋白质结合、ATP 结合和丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶结合等(见图 3)。KEGG 分析结果显示,“黄芪-山药”主要参与癌症信号通路,PI3K-Akt,丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 通路等 155 条信号通路作用于 CRF(见图 4)。

### 2.4 “黄芪-山药”与 CRF 的核心交集靶点

将 199 个交集靶点输入 STRING 数据库生成了 PPI 网络图(见图 5A),随后,这些数据被导入 Cytoscape 3.10.2 软件,依据核心靶点的度值排名,筛选出前 5 个关键靶点: AKT1、TNF、EGFR、

表 1 “黄芪-山药”有效活性成分

Table 1 Effective active ingredients of “Astragalus-Chinese yam”

来源 Source	化合物编号 MOL ID	化合物 Compound	口服利用度/% OB/%	类药性 DL
黄芪 Astragalus	MOL000239	佳罗醇 Jaranol	50.83	0.29
	MOL000354	异鼠李素 Isorhamnetin	49.60	0.31
	MOL000371	3,9-二-O-甲基尼索林 3,9-di-O-methylnisolin	53.74	0.48
	MOL000378	7-O-甲基异芒柄花素 7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30
	MOL000379	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O-β-D-葡萄糖苷 9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-β-D-glucoside	36.74	0.92
	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-二甲氧基-6a,11a-二氢-6H- 苯并呋喃[3,2-c]色烯-3-醇 (6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H- benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42
	MOL000387	联苯双酯 Bifendate	31.10	0.67
	MOL000392	福莫尼汀 Formononetin	69.67	0.21
	MOL000398	异黄酮 Isoflavone	109.99	0.30
	MOL000417	钙黏蛋白 Calycosin	47.75	0.24
	MOL000422	山奈酚 Kaempferol	41.88	0.24
	MOL000438	(3R)-3-(2-羟基-3,4-二甲氧基苯基)苯并二氢吡喃-7-醇 (3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
	MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯 1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
	MOL000098	槲皮素 Quercetin	46.43	0.28
	MOL001559	萆茛明宁碱 Piperlonguminine	30.71	0.18
	MOL000310	白玉兰亭 B Denudatin B	61.47	0.38
	MOL000322	海风藤酮 Kadsurenone	54.72	0.38
MOL005429	汉二醇 Hancinol	64.01	0.37	
山药 Chinese yam	MOL005430	山酮 C Hancinone C	59.05	0.39
	MOL005458	地塞米松 C <sub>qt</sub> Dioscoreside C <sub>qt</sub>	36.38	0.87
	MOL000546	薯蓣皂苷 Diosgenin	80.88	0.81
	MOL005463	甲基升麻苷 <sub>qt</sub> Methylcimicifugoside <sub>qt</sub>	31.69	0.24
	MOL005465	藤黄酮 B Garcinone B	45.33	0.77

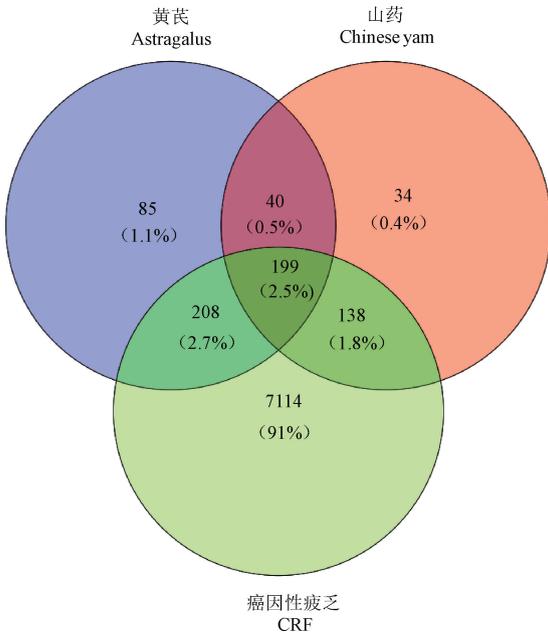


图 1 “黄芪-山药”活性成分与 CRF 的共同靶点

Figure 1 Active components of “Astragalus-Chinese yam” and their common targets in CRF

BCL2、CASP3。这些靶点在“黄芪-山药”对 CRF 的治疗中发挥了重要作用(见图 5B)。

### 2.5 分子对接验证

选择最有效的活性成分薯蓣皂苷和槲皮素分别与度值排名前 5 位的靶点进行分子对接,对接结果显示槲皮素和 AKT1、TNF、EGFR、BCL2、CASP3 的结合能分别为: -9.8、-8.5、-8.3、

表 2 “黄芪-山药”活性成分对应交集靶点数

Table 2 Number of intersecting targets corresponding to the active ingredients of “Astragalus-Chinese yam”

化合物编号 MOL ID	靶点数/个 Target/n
MOL000239	51
MOL000354	48
MOL000371	64
MOL000378	49
MOL000379	39
MOL000380	50
MOL000387	64
MOL000392	45
MOL000398	45
MOL000417	45
MOL000422	48
MOL000438	50
MOL000442	50
MOL000098	157
MOL001559	60
MOL000310	61
MOL000322	61
MOL005429	55
MOL005430	50
MOL005458	51
MOL000546	142
MOL005463	54
MOL005465	61

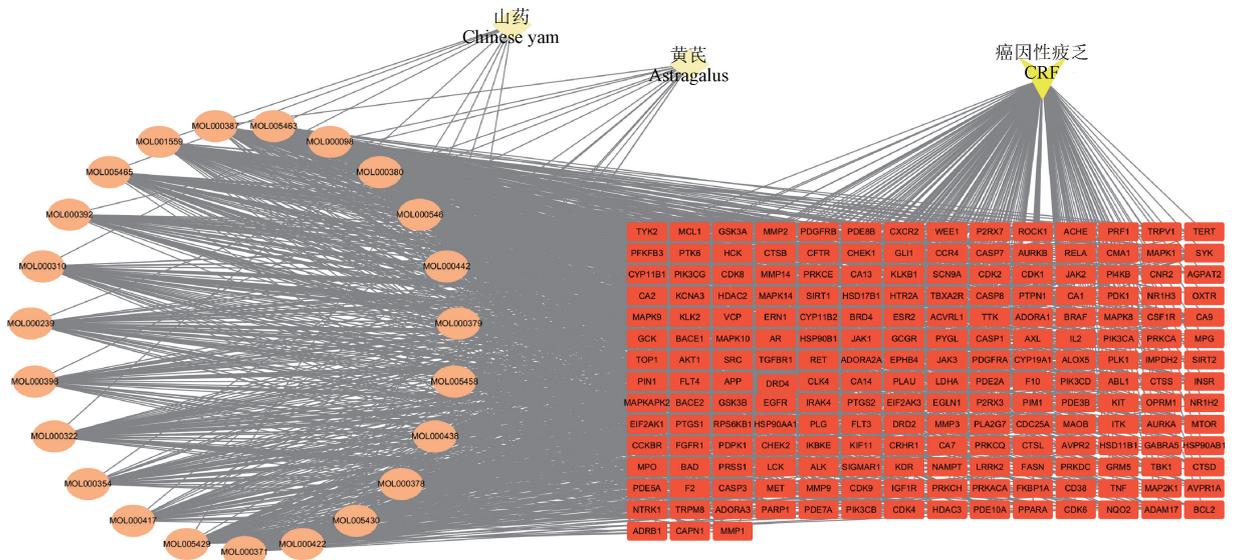


图 2 “药物-活性成分-交集靶点-疾病”网络

Figure 2 “Drug-active ingredient-intersection target-disease” network

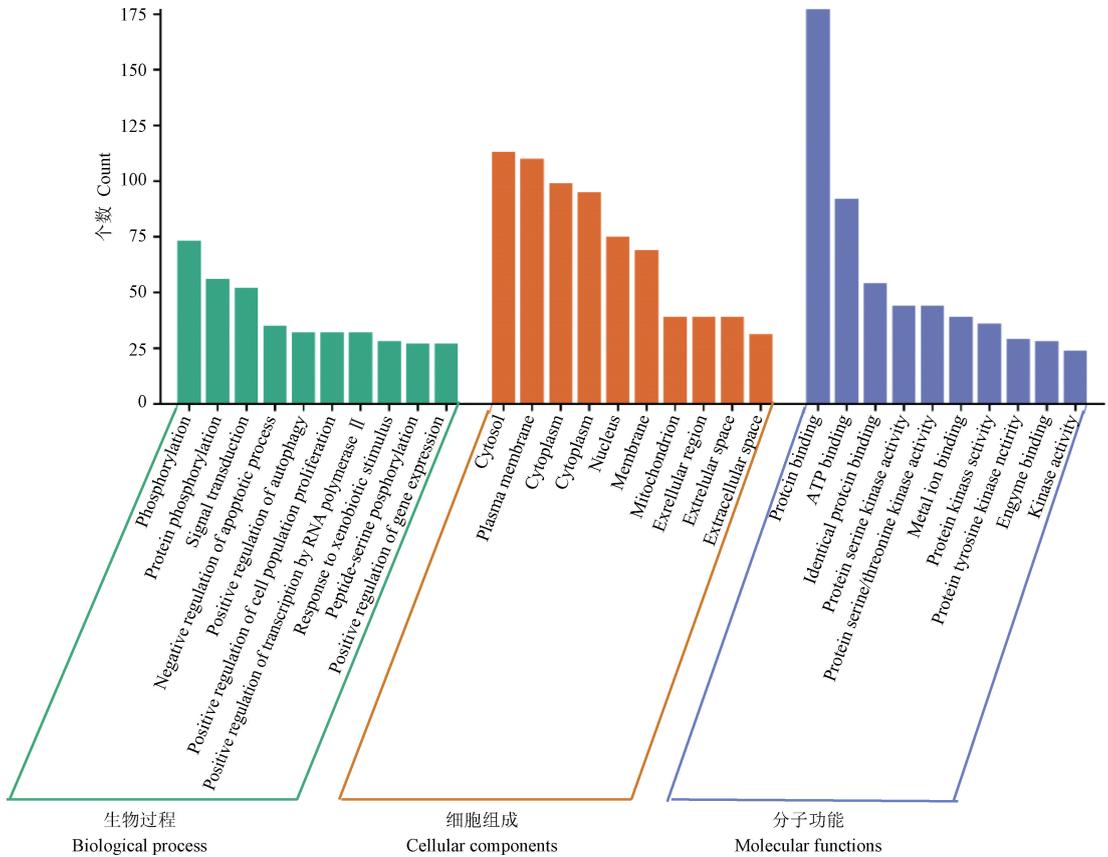


图3 “黄芪-山药”与 CRF 的交集靶点 GO 富集分析

Figure 3 GO enrichment analysis of intersection targets between “Astragalus-Chinese yam” and CRF

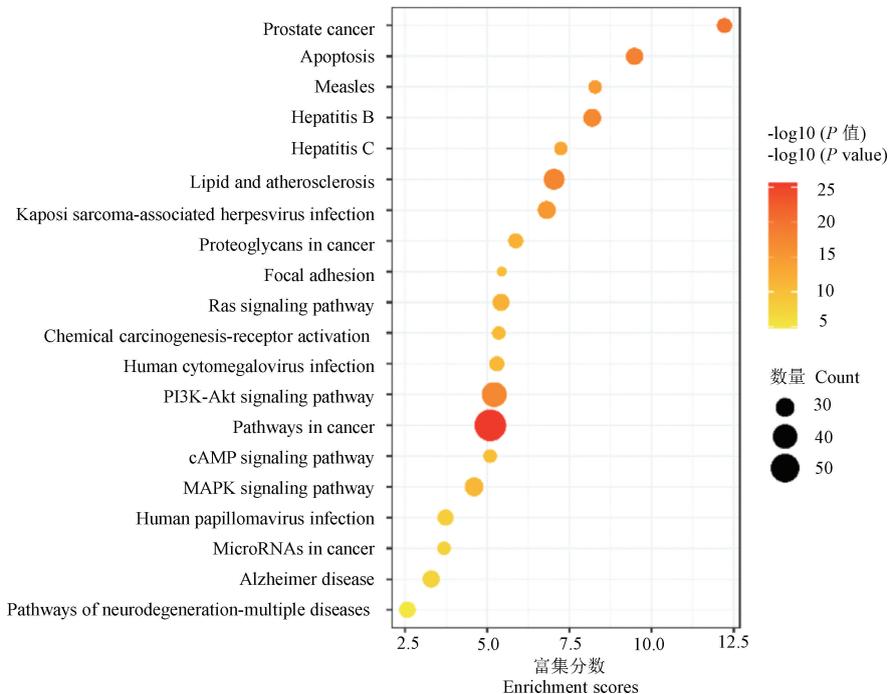
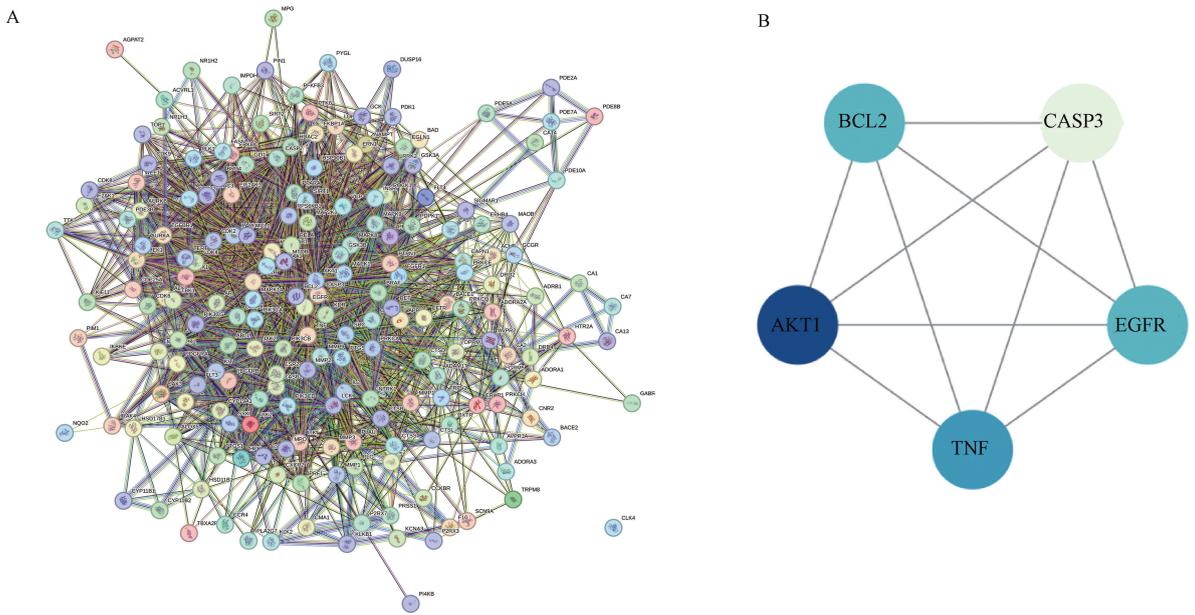


图4 “黄芪-山药”与 CRF 的交集靶点 KEGG 信号通路富集分析

Figure 4 Enrichment analysis of KEGG intersection targets between “Astragalus-Chinese yam” and CRF



注:A:交集靶点 PPI 网络图;B:degree 值排名前五的靶点图。

图 5 “黄芪-山药”与 CRF 的核心交集靶点

Note. A. Intersecting target PPI network map. B. Map of the top five targets in terms of degree value.

Figure 5 Core intersection targets of “Astragalus-Chinese yam” and CRF

-7.3、-6.9 kJ/mol。薯蓣皂苷和 AKT1、TNF、EGFR、BCL2、CASP3 的结合能分别为: -12.7、-10.0、-10.1、-10.2、-9.8 kJ/mol (见图 6, 图 7)。结合能结果说明槲皮素和薯蓣皂苷均能与这 5 个靶点结合,因为结合能都 < -5.0 kJ/mol,这说明槲皮素与薯蓣皂苷容易与以上蛋白结合,亲和力较好,且结合稳定。

### 2.6 “黄芪-山药”对小鼠 CRF 程度的影响

为了评估“黄芪-山药”在缓解小鼠 CRF 中的效果,本研究采取小鼠抓力实验和力竭游泳实验

检测药物对小鼠肌力、耐力的影响。小鼠抓力实验结果显示,与空白组的小鼠抓力相比,模型组的小鼠抓力显著降低( $P < 0.001$ )。而与模型组相比,山药组和黄芪组小鼠的抓力明显增加( $P < 0.001$ ),且黄芪-山药组小鼠抓力增加最为显著( $P < 0.001$ ),结果差异极为明显(见图 8A)。小鼠抓力的强弱与小鼠 CRF 的程度有关,小鼠抓力越强说明小鼠 CRF 的程度越轻,反之则越重,以上结果说明应用黄芪和山药后小鼠的 CRF 程度得到缓解,小鼠肌力得到恢复,且黄芪-山药组效

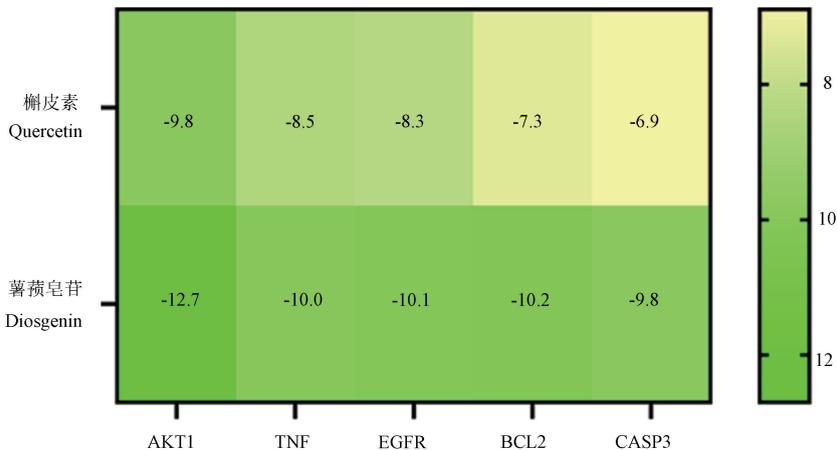


图 6 槲皮素、薯蓣皂苷与 AKT1、TNF、EGFR、BCL2 和 CASP3 的结合

Figure 6 Binding energy of quercetin, diosgenin with AKT1, TNF, EGFR, BCL2 and CASP3

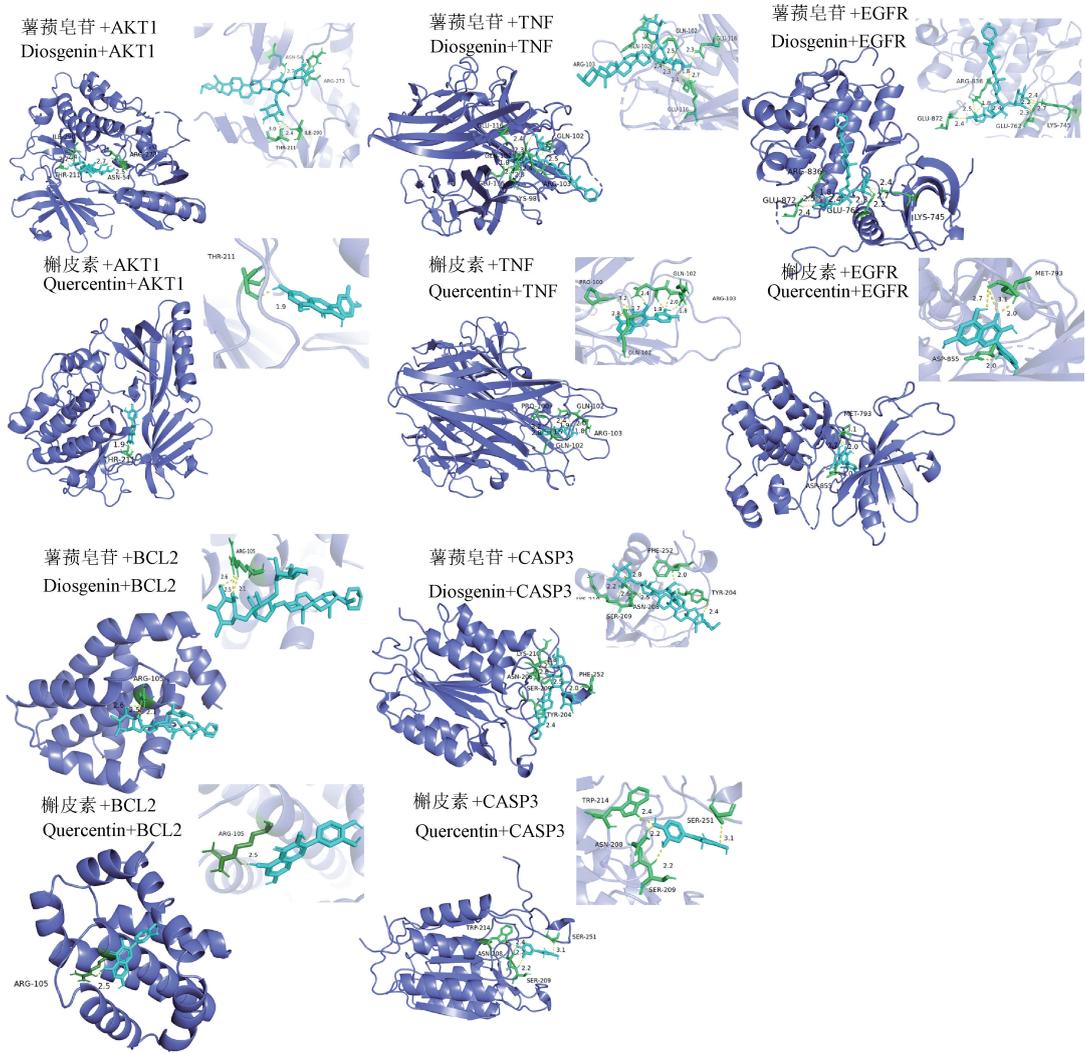


图 7 槲皮素、薯蓣皂苷与 AKT1、TNF、EGFR、BCL2 和 CASP3 的分子对接

Figure 7 Molecular docking of quercetin, diosgenin with AKT1, TNF, EGFR, BCL2 and CASP3

果最为明显。

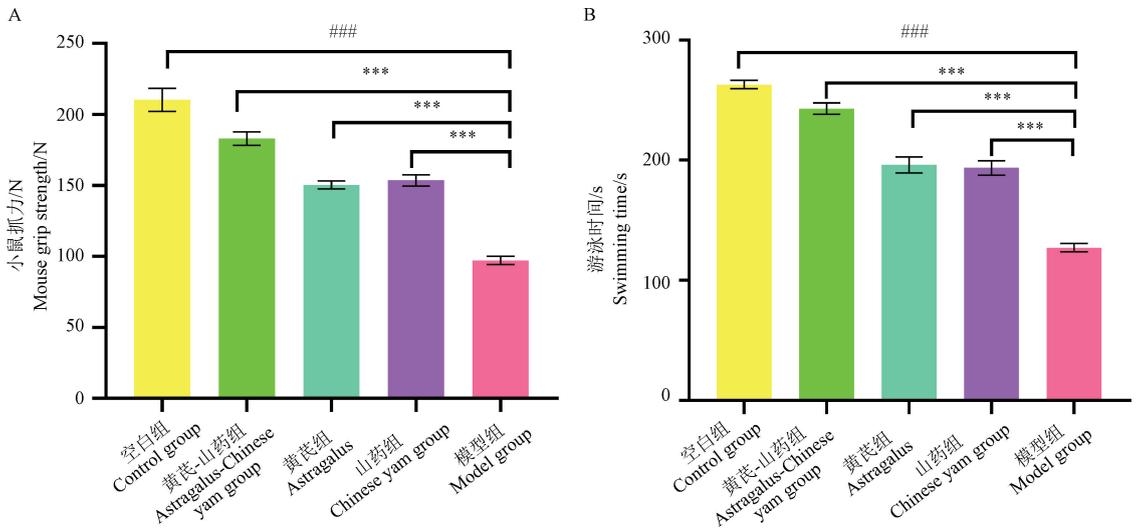
小鼠力竭游泳实验结果显示,与空白组相比,模型组的小鼠游泳时间明显缩短( $P < 0.001$ )。与模型组相比,山药组和黄芪组的小鼠游泳时间延长,且“黄芪-山药”组小鼠游泳时间延长最为明显( $P < 0.001$ ),结果具有极显著性差异(见图 8B)。以上结果说明应用黄芪和山药后小鼠的体力增强,CRF 程度得到缓解,且黄芪-山药组治疗效果最为明显。

## 2.7 “黄芪-山药”对小鼠腓肠肌的影响

实验结束后取材,取小鼠腓肠肌称重后,结果显示与空白组小鼠相比,模型组的小鼠腓肠肌体积明显减小、质量明显降低( $P < 0.001$ )。但与模型组相比,山药组和黄芪组的小鼠腓肠肌体积较大、质量更重,且黄芪-山药组小鼠腓肠肌的体

积变大、质量变重的情况更为明显(见图 9)( $P < 0.001$ ),结果具有极显著性差异。研究结果表明在“黄芪-山药”联合使用后可以显著逆转小鼠腓肠肌体积、质量降低的现象。

通过对腓肠肌组织进行 HE 染色观察,结果显示,空白组小鼠的腓肠肌纤维排列整齐、形态饱满且分界清晰。而模型组小鼠的肌纤维则出现了排列紊乱,肌纤维萎缩、断裂的现象,黄芪组和山药组的小鼠腓肠肌纤维损伤得以部分缓解,黄芪-山药组腓肠肌更为饱满,排列更为整齐(见图 10),这说明在应用山药和黄芪后改善了小鼠腓肠肌肌纤维萎缩、断裂的现象,小鼠的肌纤维更饱满,且黄芪-山药组效果改善最为明显。以上结果表明“黄芪-山药”联合应用可以缓解小鼠的疲乏程度,对 CRF 具有治疗作用。

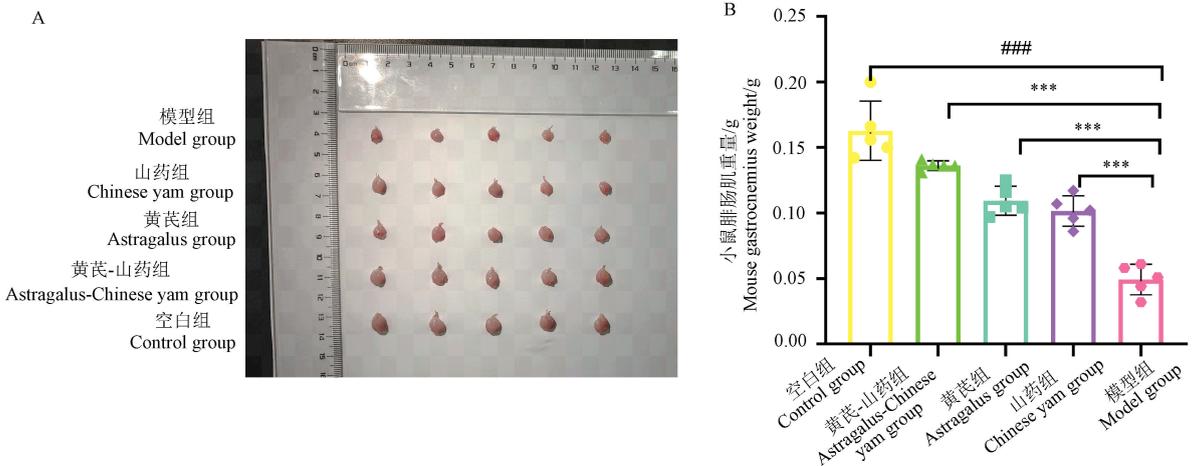


注:A:小鼠抓力值;B:小鼠游泳时间;与空白组相比,### $P < 0.001$ ;与模型组相比,\*\*\* $P < 0.001$ 。(下同)

图8 小鼠抓力值和力竭游泳结果

Note. A. Grip strength values in mice. B. Swimming durations in mice. Compared with the control group, ### $P < 0.001$ . Compared with the model group, \*\*\* $P < 0.001$ . (The same in the following figures)

Figure 8 Results of grip strength and exhaustive swimming tests in mice



注:A:小鼠腓肠肌图;B:小鼠腓肠肌重量。

图9 小鼠腓肠肌体积及重量

Note. A. Gastrocnemius muscle images from mice. B. Gastrocnemius muscle weight in mice.

Figure 9 Volume and weight of gastrocnemius muscle in mice

为了进一步检测肌肉萎缩情况,本研究检测了特异性标记肌肉组织的蛋白 MF20 的表达情况。Western Blot 结果显示,与空白组小鼠腓肠肌相比,模型组中 MF20 表达量显著降低,具有统计学意义( $P < 0.001$ ) (见图 11)。与模型组相比,山药组,黄芪组 MF20 表达量相对较高,且黄芪-山药组表达量相对更高,具有统计学意义( $P < 0.001$ ),这说明山药和黄芪的使用使小鼠腓肠肌

MF20 蛋白水平提高,且黄芪-山药组 MF20 表达水平提高最为明显。以上结果表明“黄芪-山药”的应用缓解了小鼠的肌纤维状态和疲乏程度。

### 3 讨论

CRF 的治疗一直以来都是肿瘤领域的重要问题,CRF 的总体患病率为 52%,研究显示体能不足、放化疗等都是加重癌症相关疲劳状况的危

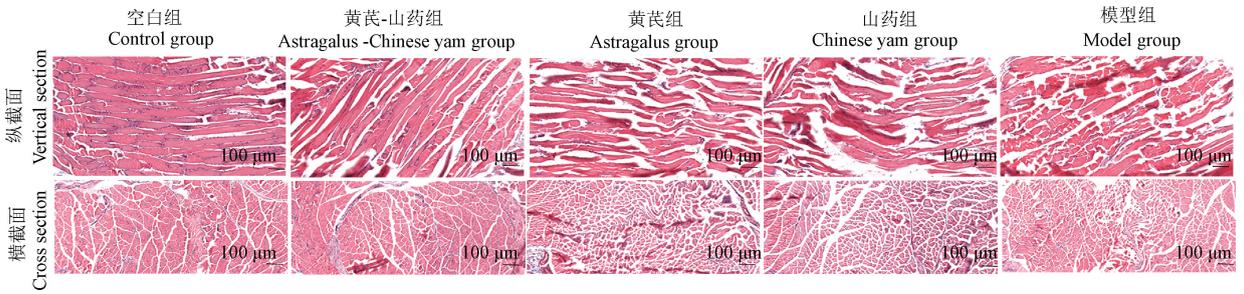


图 10 小鼠腓肠肌切面 HE 染色结果

Figure 10 HE staining results of mouse gastrocnemius muscle sections

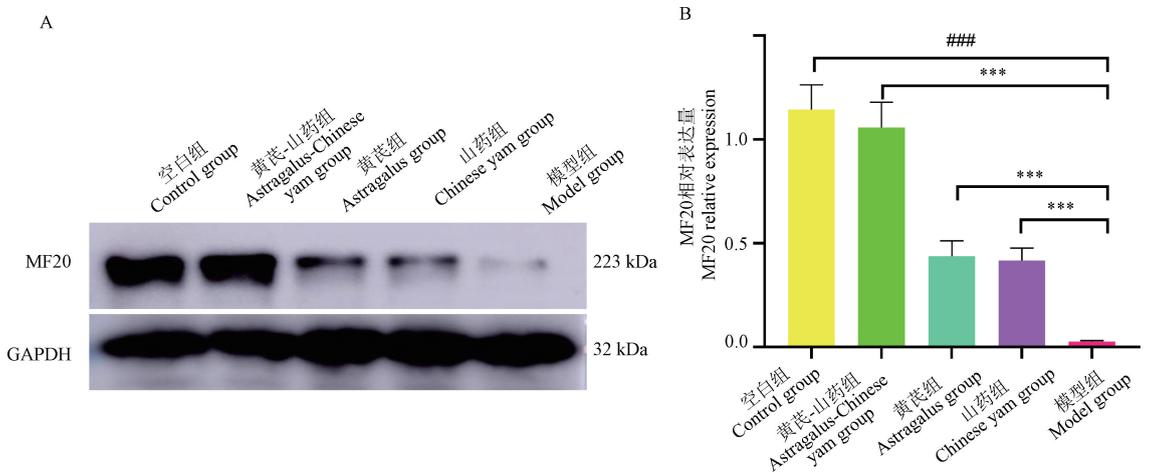


图 11 小鼠腓肠肌 MF20 的蛋白定量分析

Figure 11 Presents the protein quantification analysis of MF20 in the gastrocnemius muscle of mice

险因素<sup>[1]</sup>。CRF 持续时间长,会导致患者生活质量下降,但是西医对于 CRF 仅限于对症治疗<sup>[11]</sup>, CRF 在中医中称为“虚劳”的范畴<sup>[12]</sup>,中医的整体观念和辨证论治,在治疗 CRF 方面具有极大优势<sup>[13]</sup>。天然的中药及化学成分在 CRF 的防治中发挥着至关重要的作用,在临床缓解患者 CRF 治疗中得到了广泛的应用<sup>[14]</sup>。基于网络药理学的运用,杨明等<sup>[15]</sup>揭示了川芎挥发油在治疗心绞痛治疗中的作用机制。也有研究基于该法确认了酸枣仁复方在抑郁症治疗中的作用机制<sup>[16]</sup>。同时中药治疗 CRF 的症状取得了一系列的成果<sup>[17]</sup>。姜家康等<sup>[18]</sup>通过网络药理学明确了“人参-黄精”药在治疗 CRF 中作用明显。

本研究使用网络药理学筛选到“黄芪-山药”的有效活性成分 23 个,并通过与 CRF 靶点取交集得到 199 个交集靶点,通过“药物-有效活性成分-靶点-疾病”网络分析得出槲皮素和薯蓣皂苷是“黄芪-山药”治疗 CRF 的重要有效活性成分。

槲皮素是一种黄酮醇,具有抗炎和抗癌特性, DONG 等<sup>[19]</sup>研究表明黄芪中的槲皮素是发挥抗癌作用的主要化合物。同时已有学者通过临床研究、基础研究证明了槲皮素可以增强肌肉功能<sup>[20-21]</sup>,抗氧化作用来缓解疲乏。薯蓣皂苷是山药中的主要成分,研究发现薯蓣皂苷对于乳腺癌等的治疗发挥着重要作用<sup>[22]</sup>。薯蓣皂苷对于 CRF 的治疗作用可能是与其对于肿瘤的防治作用密切相关。以上研究与本实验结果一致,在“黄芪-山药”治疗 CRF 的过程中,槲皮素与薯蓣皂苷起到了重要作用,可能与其对于肿瘤的防治有关。

研究人员将交集靶点进行 PPI 分析后得到度值排名前 5 的核心靶点: AKT1、TNF、EGFR、BCL2、CASP3,进一步进行 GO 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析,通过细胞(质、膜、核)等细胞组分参与蛋白磷酸化、信号转导等生物学过程,并发挥一系列的分子功能如蛋白质结合、ATP 结

合等。“黄芪-山药”主要参与癌症通路, PI3K-Akt, MAPK 等 155 条信号通路作用于 CRF。将核心靶点 AKT1、TNF、EGFR、BCL2、CASP3 与槲皮素和薯蓣皂苷分别进行分子对接, 结果分子结合能均  $< -5.0$  kJ/mol, 有力证明了以上核心靶点均与槲皮素和薯蓣皂苷具有良好的结合力, “黄芪-山药”的活性成分与核心靶点结合稳定, 在治疗 CRF 的过程中占据重要地位。AKT1 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的基因编码。已有研究证明在小鼠疲乏程度较高的模型中 AKT1 的表达显著降低<sup>[23]</sup>。PI3K-Akt 信号通路是细胞内信号转导的关键通路之一, 能够调控细胞凋亡、炎症反应等多种生理功能<sup>[24]</sup>, 李丹等<sup>[25]</sup>研究显示, 艾灸和红外线照射能够通过 PI3K-Akt 通路有效缓解小鼠的疲劳感。MAPK 通路则与正常细胞的恶性转化有关<sup>[26]</sup>。EGFR 在抑制肿瘤生长和转移方面亦起重要作用<sup>[27]</sup>。研究发现, 疲劳患者的 TNF 水平明显高于非疲劳参与者<sup>[28]</sup>, BCL2 家族蛋白是线粒体细胞凋亡的重要调节因子, 在许多癌症中常出现表达上调, 线粒体通过稳定 BCL2 来调节氧化应激诱导的细胞凋亡<sup>[29]</sup>。作为细胞凋亡诱导的关键因子, 已有研究表明, 在疲劳小鼠中 CASP3 表达相对较高<sup>[30]</sup>。因此, 以上靶点和通路在“黄芪-山药”药对治疗 CRF 中扮演了关键角色。

在本研究中通过小鼠抓力实验和力竭游泳实验进行小鼠行为学检测, 结果显示山药、黄芪干预后小鼠的 CRF 程度得到了明显缓解, 且黄芪-山药组效果最为明显, 卢茜等<sup>[31]</sup>也通过力竭游泳实验研究芪术增力方改善 CRF 的作用。本研究对小鼠取材后对腓肠肌进行观察并称重, 发现山药组和黄芪组的腓肠肌重量均重于模型组, “黄芪-山药”组最为明显, 固定包埋后进行 HE 染色, 结果发现与模型组相比较, 小鼠肌纤维排列更整齐边界更清晰, 黄芪-山药组效果更为明显, MF20 是通常用作肌肉细胞和肌肉相关疾病研究中的生物标志物<sup>[32]</sup>。本研究发现黄芪组和山药组小鼠 MF20 的相对表达量高于模型组且黄芪-山药组最为明显, 以上研究均说明了“黄芪-山药”药对的使用可以有效治疗 CRF。

## 4 结论

综上, “黄芪-山药”药对可能通过 AKT1、

TNF、EGFR、BCL2、CASP3 等靶点和 PI3K/Akt 等信号通路缓解 CRF 的症状, 增强小鼠抓力延长运动时间, 这为中药多靶点多通路的治疗 CRF 提供了理论依据, 促进了药食同源药物在临床研究和饮食治疗中的使用。

## 参 考 文 献 (References)

- [1] MA Y, HE B, JIANG M, et al. Prevalence and risk factors of cancer-related fatigue: a systematic review and meta-analysis [J]. *Int J Nurs Stud*, 2020, 111: 103707.
- [2] LAWRENCE D P, KUPELNICK B, MILLER K, et al. Evidence report on the occurrence, assessment, and treatment of fatigue in cancer patients [J]. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2004, 32: 40-50.
- [3] FABI A, BHARGAVA R, FATIGONI S, et al. Cancer-related fatigue: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis and treatment [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(6): 713-723.
- [4] 陈红瑶, 杨仁义, 郜文辉, 等. 药食同源中药治疗胃癌癌因性疲乏的用药规律 [J]. *世界中医药*, 2024, 19(6): 850-855.  
CHEN H Y, YANG R Y, GAO W H, et al. Medication patterns of edible and medicinal Chinese herbs in treatment of gastric cancer-related fatigue [J]. *World Chin Med*, 2024, 19(6): 850-855.
- [5] 田贤, 韩宝银. 山药药食保健功能及开发利用研究进展 [J]. *中医药导报*, 2023, 29(1): 108-111.  
TIAN X, HAN B Y. Research progress on health care function, development and utilization of Shanyao (*dioscoreae rhizoma*) [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 29(1): 108-111.
- [6] 李婧, 曾郅纯, 苏钊, 等. 参山药膳改善癌因性疲乏的疗效与作用机制初探 [J]. *中国民族民间医药*, 2024, 33(12): 102-109.  
LI J, ZENG Z C, SU Z, et al. A preliminary study on the efficacy and mechanism of *Shenshan* medicated diet in improving cancer-related fatigue [J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2024, 33(12): 102-109.
- [7] 江远玲, 冯楠, 邵欣宇, 等. 黄芪的现代药理作用研究进展 [J]. *西南医科大学学报*, 2023, 46(5): 456-460, 463.  
JIANG Y L, FENG N, SHAO X Y, et al. Research progress of modern pharmacological function of *Astragalus membranaceus* [J]. *J Southwest Med Univ*, 2023, 46(5): 456-460, 463.
- [8] 奚佳玉, 苏圆锦, 赵鲲鹏, 等. 黄芪药食同源的研究进展 [J]. *华西药学杂志*, 2023, 38(6): 718-724.  
XI J Y, SU Y J, ZHAO K P, et al. Research progress in medicinal and food homologous of *Astragali Radix* [J]. *West*

- China J Pharm Sci, 2023, 38(6): 718-724.
- [9] 崔艺馨, 米继伟, 冯宇, 等. 黄芪四君子汤治疗乳腺癌癌因性疲乏的疗效及机制: 基于 94 例临床随机对照试验和网络药理学 [J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(5): 649-657.  
CUI Y X, MI J W, FENG Y, et al. Huangqi Sijunzi decoction for treating cancer-related fatigue in breast cancer patients: a randomized trial and network pharmacology study [J]. J South Med Univ, 2022, 42(5): 649-657.
- [10] 周滢, 舒承倩, 唐欣, 等. 山药和黄芪的临床配伍意义分析及应用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2017, 23(9): 1332-1333.  
ZHOU Y, SHU C Q, TANG X, et al. To analysis the significance of the clinical compatibility application between Shanyao and Huangqi [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med, 2017, 23(9): 1332-1333.
- [11] WANG J, YIN Y, LI Y, et al. The effects of solution-focused nursing on leukemia chemotherapy patients' moods, cancer-related fatigue, coping styles, self-efficacy, and quality of life [J]. Am J Transl Res, 2021, 13(6): 6611-6619.
- [12] 王泽坤, 陈晓琦, 陈召起, 等. 癌因性疲乏的中西医研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(3): 1185-1189.  
WANG Z K, CHEN X Q, CHEN Z Q, et al. Research progress on cancer-related fatigue in traditional Chinese and Western medicine [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2023, 38(3): 1185-1189.
- [13] 徐琼, 张恒, 秦浩人, 等. 基于 CiteSpace 及 VOSviewer 可视化分析中医药治疗癌因性疲乏的研究热点和趋势 [J]. 浙江中医药大学学报, 2023, 47(7): 813-823.  
XU Q, ZHANG H, QIN H R, et al. Visual analysis of research hotspots and trends in Chinese medicine for cancer-related fatigue based on CiteSpace and VOSviewer [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2023, 47(7): 813-823.
- [14] ZHANG C, GUO W, YAO X, et al. Database mining and animal experiment-based validation of the efficacy and mechanism of Radix Astragali (Huangqi) and Rhizoma Atractylodis Macrocephalae (Baizhu) as core drugs of Traditional Chinese medicine in cancer-related fatigue [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 285: 114892.
- [15] 杨明, 王朝平, 雷志强, 等. 川芎挥发油治疗心绞痛的药理学研究及实验验证 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 867-878.  
YANG M, WANG C P, LEI Z Q, et al. Network pharmacological study and experimental validation of Rhizoma Chuanxiong volatile oil in the treatment of angina pectoris [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(7): 867-878.
- [16] 郑涵文, 刘昕玥, 赵海燕, 等. 基于网络药理学和实验验证探究酸枣仁复方治疗抑郁症的作用机制 [J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 901-912.  
ZHENG H W, LIU X Y, ZHAO H Y, et al. Exploring the mechanism of action of sour jujube nut compound formula for depression based on network pharmacology and experimental validation [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2024, 32(7): 901-912.
- [17] WEI Z, CHEN J, ZUO F, et al. Traditional Chinese Medicine has great potential as candidate drugs for lung cancer: a review [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 300: 115748.
- [18] 姜家康, 牛泽基, 姜庆辉, 等. 基于网络药理学和分子对接研究人参-黄精药对治疗癌因性疲乏的作用机制 [J]. 现代中西医结合杂志, 2022, 31(16): 2301-2309.  
JIANG J K, NIU Z J, JIANG Q H, et al. Based on network pharmacology and molecular docking to study the mechanism of the Ginseng-Huangjing couple in treating cancer-related fatigue [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med, 2022, 31(16): 2301-2309.
- [19] DONG K F, HUO M Q, SUN H Y, et al. Mechanism of *Astragalus membranaceus* in the treatment of laryngeal cancer based on gene co-expression network and molecular docking [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 11184.
- [20] KURTZ J A, VANDUSSELDORP T A, UKEN B, et al. Quercetin in sports and exercise: a review [J]. Int J Exerc Sci, 2023, 16(2): 1334-1384.
- [21] CHEN X, LIANG D, HUANG Z, et al. Anti-fatigue effect of quercetin on enhancing muscle function and antioxidant capacity [J]. J Food Biochem, 2021, 45(11): e13968.
- [22] LIU Y, ZHOU Z, YAN J, et al. Diosgenin exerts antitumor activity via downregulation of Skp2 in breast cancer cells [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 8072639.
- [23] REGUÉ L, JI F, FLICKER D, et al. IMP2 increases mouse skeletal muscle mass and voluntary activity by enhancing autocrine insulin-like growth factor 2 production and optimizing muscle metabolism [J]. Mol Cell Biol, 2019, 39(7): e00528-e00618.
- [24] WANG J, HU K, CAI X, et al. Targeting PI3K/AKT signaling for treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(1): 18-32.
- [25] 李丹, 胡凯文, 韩丽, 等. 艾灸对癌性疲劳小鼠磷脂酰肌醇 3 激酶-蛋白激酶 B 信号通路的影响 [J]. 世界中医药, 2024, 19(19): 1-7.  
LI D, HU K W, HAN L, et al. Effects of moxibustion on PI3K-AKT signaling pathway in cancer-related fatigue mice [J]. World Chin Med, 2024, 19(19): 1-7.
- [26] SINKALA M, NKHOMA P, MULDER N, et al. Integrated molecular characterisation of the MAPK pathways in human cancers reveals pharmacologically vulnerable mutations and

- gene dependencies [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1): 9.
- [27] LEVANTINI E, MARONI G, DEL RE M, et al. EGFR signaling pathway as therapeutic target in human cancers [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 85: 253-275.
- [28] BROWNSTEIN C G, TWOMEY R, TEMESI J, et al. Physiological and psychosocial correlates of cancer-related fatigue [J]. *J Cancer Surviv*, 2022, 16(6): 1339-1354.
- [29] CZABOTAR P E, GARCIA-SAEZ A J. Mechanisms of BCL-2 family proteins in mitochondrial apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2023, 24(10): 732-748.
- [30] MA C, DENG Y, XIAO R, et al. Anti-fatigue effect of phlorizin on exhaustive exercise-induced oxidative injury mediated by Nrf2/ARE signaling pathway in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 918: 174563.
- [31] 卢茜, 罗溢昌, 许双洁, 等. 基于网络药理学和裸鼠实验探讨芪术增力方治疗癌因性疲乏的作用机制 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(7): 1173-1177.
- LU X, LUO Y C, XU S J, et al. Exploring the mechanism of Qizhu Zengli Fang in treating cancer-related fatigue based on network pharmacology and nude mouse experiments [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2024, 30(7): 1173-1177.
- [32] SHIMIZU T, DENNIS J E, MASAKI T, et al. Axial arrangement of the myosin rod in vertebrate thick filaments: immunoelectron microscopy with a monoclonal antibody to light meromyosin [J]. *J Cell Biol*, 1985, 101(3): 1115-1123.

[收稿日期] 2024-12-23

## 《中国比较医学杂志》稿约

国内刊号 CN 11-4822/R 国际刊号 ISSN 1671-7856 邮局代号 82-917

### 一、杂志介绍

本刊是由中国实验动物学会与中国医学科学院医学实验动物研究所主办的全国性高级学术刊物(月刊)。征稿的范围是与人类生命与健康密切相关的实验动物与动物实验等生命科学各分支学科,重点刊载比较医学成果和进展。栏目设置包括研究报告、综述与专论、研究快报、研究简讯、技术与方法、经验交流、学术动态、国外研究进展、学术信息、简讯等栏目。要求来稿数据可靠、文字简练、观点明确、论证合理,有创新、有突破、有新意。

本刊是中国学术期刊综合评价数据库来源期刊、被《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中文核心期刊要目总览》、中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学期刊数据库等数据库收录。

### 二、投稿要求及注意事项

文稿内容要具有创新性、科学性和实用性,论点明确,资料可靠,文字通顺精练,标点符号准确,用词规范,图表清晰。文章正文字数在 5000 字左右。

投稿网址: <http://zgswdw.cnjournals.com/zgbjyxzz/ch/index.aspx>

期待您的来稿!