

• 实验研究 •

基于网络药理学的肾康注射液治疗慢性肾功能衰竭作用机制研究

王存良¹, 施亚敏², 付智慧², 于东升², 朱春胜^{2*}

1. 郑州大学第一附属医院 医务处, 河南 郑州 450000

2. 郑州大学第一附属医院 中医内科学部, 河南 郑州 450000

摘要: **目的** 采用网络药理学方法, 科学阐释肾康注射液治疗慢性肾功能衰竭(CRF)的作用机制。**方法** 通过TCMSP数据库获取肾康注射液的活性成分、潜在药物靶点, 通过OMIM、TTD、GeneCards数据库获得CRF的相关靶点, 并结合相关软件进行网络药理学分析, 包括蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)、基因本体(GO)分析、京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析。**结果** 从TCMSP数据库共筛选得到肾康注射液活性成分96个, 包括槲皮素、山柰酚、木犀草素等核心成分, 涉及相关基因靶点244个。PPI网络涉及93个药物靶点, 度值排名前10的核心靶点分别是AKT1、VEGFA、IL6、TNF、TP53、MAPK1、CASP3、EGF、MMP9、EGFR。GO功能分析共获得710个条目($P < 0.05$), KEGG通路富集得到112条信号通路($P < 0.05$), 包括PI3K-Akt、TNF、HIF-1等信号通路。**结论** 肾康注射液治疗CRF是多成分、多靶点、多通路的综合效应。

关键词: 肾康注射液; 网络药理学; 慢性肾功能衰竭; 槲皮素; 山柰酚; 木犀草素

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)01-0001-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.01.001

Research on treatment of chronic renal failure mechanism of Shenkang Injection based on network pharmacology

WANG Cun-liang¹, SHI Ya-min², FU Zhi-hui², YU Dong-sheng², ZHU Chun-sheng²

1. Medical Department, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

2. Department of Traditional Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China

Abstract: **Objective** Using network pharmacology, scientifically explain the mechanism of Shenkang Injection in the treatment of chronic renal failure (CRF). **Methods** Active ingredients and potential drug targets of Shenkang Injection were obtained through TCMSP database, CRF related targets were searched through OMIM, TTD, GeneCards databases, and perform network pharmacological was analyzed by related software, including protein-protein interaction (PPI), Gene Ontology (GO) analysis, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis. **Results** A total of 96 active ingredients of Shenkang Injection were screened from the TCMSP database, including core ingredients such as quercetin, kaempferol, luteolin, and 244 related gene targets. The PPI network involves 93 potential drug targets, and the top 10 core targets were AKT1, VEGFA, IL6, TNF, TP53, MAPK1, CASP3, EGF, MMP9, and EGFR. GO function analysis obtained a total of 710 entries ($P < 0.05$), 112 signal pathways of KEGG pathway enrichment were obtained ($P < 0.05$), including PI3K-Akt, TNF, HIF-1 and other signal pathways. **Conclusion** The treatment of CRF with Shenkang Injection is a comprehensive effect of multiple components, multiple targets and multiple pathways.

Key words: Shenkang Injection; network pharmacology; chronic renal failure; quercetin; kaempferol; luteolin

慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)是指由各种原发性或继发性慢性肾脏疾患导致肾单位结构破坏, 迁延不愈, 不断恶化进展至晚期,

主要表现为代谢产物潴留、水电解质紊乱、酸碱平衡失调和全身各系统症状的一种临床综合征^[1-2]。流行病学调查结果显示全球慢性肾脏疾病患病率为

收稿日期: 2020-11-25

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81900468); 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20190273)

作者简介: 王存良, 副主任医师, 研究方向为临床药学。E-mail: wangcunliang371@163.com

*通信作者: 朱春胜, 主管药师, 研究方向为临床中医学。E-mail: zhuchunsheng6@163.com

10%~12%，而且由于全球糖尿病和高血压等疾病的大流行，全球肾脏疾病患者发展为 CRF 的比例正在逐年上升^[3-4]。CRF 的药物治疗已经取得了重大进展，然而，许多患者仍然进展到终末期肾病，需要接受透析治疗或肾移植，这给社会和家庭带来了巨大的经济负担^[5]。仅在美国慢性肾脏病或 CRF 患者提供的医疗保险支出估计每年超过 1 140 亿美元^[6]。此外，大量临床研究数据显示，CRF 不仅是急性肾损伤的重要危险因素，亦是引起心血管疾病的重要诱因^[7]。因此，CRF 的治疗需给予足够的重视。

传统中医并无 CRF 病名记载，根据其临床发病特点及特征，中医将其归属于“癃闭”“肾劳”“水肿”“溺毒”“关格”等范畴^[2,8]。大量的临床实践经验表明，中医药在缓解 CRF 症状、延缓早中期肾功能进展、推迟进入替代治疗等方面取得了明显的优势。因此，中医药在治疗 CRF 过程中已逐步获得临床的青睐。2019 年中国中西医结合学会肾脏病专业委员会在慢性肾脏病合理应用专家共识中推荐肾康注射液作为临床治疗 CRF 的药物^[9]。肾康注射液由大黄、丹参、红花、黄芪 4 味药组成，具有降逆泄浊、益气活血、通腑利湿之功，在临床广泛适用于 CRF，属湿浊血瘀证的治疗^[9]。此外，大量临床研究和数据分析表明肾康注射液可有效改善 CRF 患者肾功能的肌酐、尿素氮、尿蛋白排泄率水平，同时亦可改善 CRF 患者肾功能相关症状，且安全性较高^[10-12]。然而，肾康注射液治疗 CRF 的基础研究较少，其作用机制尚未详细阐明。

中药发挥药效是多成分、多效用、多靶点的综合体现，如何借助现代先进技术阐明中药发挥药效实质，一直是影响中药走向世界的一个瓶颈。而网络药理学是集系统生物学、高通量筛选、网络分析等技术为一体，来揭示中药“药物-成分-靶点-疾病”的复杂网络关系，从多个角度来阐述中药发挥药效的作用，为推动中医药的现代化提供了借鉴^[13-15]。因此，本研究通过网络药理学方法研究肾康注射液治疗 CRF 的作用机制，为肾康注射液向临床进一步推广提供参考和依据。

1 材料与方法

1.1 肾康注射液活性成分及潜在靶点的获取

化学成分通过吸收、分布、代谢、排泄 (ADME) 过程才能发挥药效，而口服生物利用度 (OB) 和类药性 (DL) 是中药成分 ADME 的重要参数指标。因此，在中药系统药理学分析平台 TCMSP (<https://tcmispw.com/tcmisp.php>) 数据库中通过设置参

数 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ ，筛选肾康注射液有效成分以及成分对应的靶点，并将上述靶点结合 UniProt 蛋白数据库 (<http://www.uniprot.org>) 进行标准化处理，以获得肾康注射液相关的化学成分及靶点。

1.2 CRF 潜在靶点筛选

通过 OMIM (<https://www.drugbank.ca/>)、TTD (<http://bidd.nus.edu.sg/group/cjttd/>)、GeneCards (<http://www.genecards.org/>) 数据库以“chronic renal failure”为关键词分别检索与 CRF 相关的靶点，去重，并结合 UniProt 蛋白数据库 (<http://www.uniprot.org>)，对上述靶点进行标准化处理，构建 CRF 靶点数据库。

1.3 肾康注射液-CRF 共同靶点的筛选

将“1.1”项中筛选出肾康注射液活性成分所对应的靶点和“1.2”中筛选的 CRF 相关靶点上传在线韦恩图 (<http://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 进行匹配，绘制共同靶点韦恩图。

1.4 网络模型的构建与分析

1.4.1 成分靶点网络的构建

使用 Cytoscape 3.6.1 软件，构建“药物-成分-靶点”相互作用网络图，使用 Network Analyzer 功能对肾康注射液的主要活性成分进行分析。

1.4.2 构建靶蛋白相互作用网络 (PPI)

将肾康注射液和 CRF 共有靶点输入到 STRING 数据库 (<https://string-db.org/>)，限定物种为“Homo sapiens”进行检索，以获得蛋白质相互作用关系，同时导入 Cytoscape 3.6.1 软件进行 PPI 网络图构建，并分析各靶点蛋白的度值。

1.5 通路富集分析

将肾康注射液和 CRF 共有靶点输入 DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>)，限定物种为“Homo sapiens”，进行关键靶点 GO 生物学富集分析与 KEGG 代谢通路富集分析。

2 结果

2.1 肾康注射液主要活性成分的筛选

利用 TCMSP 数据库，根据类药性五原则中 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 标准筛选活性成分及其所对应的靶点，肾康注射液中大黄符合条件的化学成分有 7 个，丹参符合条件的化学成分有 57 个，红花符合条件的化学成分有 15 个，黄芪符合条件的化学成分有 17 个，其中芦荟大黄素 (A1) 为大黄与红花共有的化学成分，木犀草素 (B1) 和 poriferast-5-en-3beta-ol (B2) 为丹参和红花的共有化学成分，槲皮素 (C1) 与山柰酚 (C2) 为红花与黄芪的共有化学成分，结果见表 1。

表 1 肾康注射液主要活性成分的基本信息

Table 1 Basic information of main active ingredients of Shenkang Injection

代码	TCMSP 编号	化学成分名称	归属	OB/%	DL
DH1	MOL002235	泽兰黄酮	大黄	50.80	0.41
DH2	MOL000096	β -谷甾醇	大黄	48.64	0.61
DH3	MOL000358	(+)-儿茶素	大黄	41.65	0.63
DH4	MOL000471	大黄酸	大黄	31.99	0.32
DH5	MOL002268	决明内酯	大黄	47.07	0.28
DH6	MOL002281	胡萝卜苷	大黄	50.69	0.61
A1	MOL002297	芦荟大黄素	大黄、红花	43.02	0.74
DS1	MOL007156	丹参酮 VI	丹参	46.46	0.24
DS2	MOL007155	(6S)-6-(hydroxymethyl)-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	丹参	44.81	0.80
DS3	MOL007154	丹参酮 II A	丹参	61.06	0.61
DS4	MOL007152	紫丹参乙素	丹参	35.89	0.70
DS5	MOL007151	丹参二醇 B	丹参	32.45	0.65
DS6	MOL007150	(6S)-6-hydroxy-1-methyl-6-methylol-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-quinone	丹参	36.91	0.75
DS7	MOL007145	鼠尾草酚酮	丹参	83.38	0.24
DS8	MOL007143	鼠尾草酚酮 I	丹参	30.25	0.67
DS9	MOL007142	丹参酸 J	丹参	38.75	0.36
DS10	MOL007141	丹参酸 G	丹参	43.83	0.76
DS11	MOL007132	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(Z)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acryloyl]oxy-propionic acid	丹参	36.91	0.75
DS12	MOL007130	原紫草酸	丹参	45.46	0.23
DS13	MOL007127	1-methyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[5,6-g]benzofuran-6,10,11-trione	丹参	36.11	0.28
DS14	MOL007125	隐丹参酮	丹参	43.76	0.40
DS15	MOL007124	隐丹参酮 II	丹参	40.12	0.75
DS16	MOL007122	丹参新酮	丹参	61.85	0.26
DS17	MOL007121	丹参环庚三烯酚酮	丹参	36.16	0.25
DS18	MOL007120	丹参酚酮 II	丹参	39.51	0.76
DS19	MOL007119	丹参酚酮 I	丹参	33.77	0.29
DS20	MOL007115	泪柏醇	丹参	40.86	0.23
DS21	MOL007111	异丹参酮 II	丹参	44.93	0.44
DS22	MOL007108	异隐丹参酮	丹参	48.24	0.31
DS23	MOL007107	C09092	丹参	34.35	0.23
DS24	MOL007105	表丹参螺缩酮内酯	丹参	62.78	0.40
DS25	MOL007101	二氢丹参酮 I	丹参	46.69	0.71
DS26	MOL007100	二氢丹参内酯	丹参	73.44	0.42
DS27	MOL007098	去羟新隐丹参酮	丹参	32.16	0.41
DS28	MOL007094	丹参螺缩酮内酯	丹参	37.07	0.36
DS29	MOL007093	丹参新酮 D	丹参	37.11	0.65
DS30	MOL007088	隐丹参酮	丹参	110.32	0.44
DS31	MOL007085	鼠尾酮	丹参	62.24	0.41
DS32	MOL007082	丹参醇 A	丹参	55.74	0.40
DS33	MOL007081	丹参醇 B	丹参	41.31	0.45
DS34	MOL007079	丹参醛	丹参	40.31	0.46
DS35	MOL007077	香紫苏醇	丹参	43.67	0.21
DS36	MOL007071	紫丹参甲素 F	丹参	52.47	0.45
DS37	MOL007070	(6S,7R)-6,7-dihydroxy-1,6-dimethyl-8,9-dihydro-7H-naphtho[8,7-g]benzofuran-10,11-dione	丹参	57.95	0.56
DS38	MOL007069	紫丹参甲素 C	丹参	56.97	0.52
DS39	MOL007068	紫丹参甲素 B	丹参	30.38	0.38
DS40	MOL007064	紫丹参萜醚 B	丹参	52.34	0.40

续表 1

代码	TCMSP 编号	化学成分名称	归属	OB/%	DL
DS41	MOL007061	亚甲基丹参醌	丹参	38.88	0.55
DS42	MOL007059	3-羟基亚甲基丹参醌	丹参	50.43	0.31
DS43	MOL007058	甲酰丹参酮	丹参	49.40	0.29
DS44	MOL007050	2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-5-(3-hydroxypropyl)-7-methoxy-3-benzofurancarboxaldehyde	丹参	38.68	0.32
DS45	MOL007049	4-亚甲丹参新酮	丹参	45.04	0.36
DS46	MOL007048	(E)-3-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)-7-hydroxy-benzofuran-4-yl]acrylic acid	丹参	68.27	0.31
DS47	MOL007045	3 α -羟基丹参酮 II A	丹参	36.07	0.25
DS48	MOL007041	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	丹参	54.98	0.39
DS49	MOL007036	鼠尾草酮	丹参	49.92	0.40
DS50	MOL002651	去氢丹参酮 II _A	丹参	45.04	0.20
DS51	MOL002222	柳杉酚	丹参	39.61	0.28
DS52	MOL001942	异欧前胡素	丹参	49.68	0.32
DS53	MOL001771	多孔甾醇	丹参	71.03	0.44
DS54	MOL001659	1,2,5,6-四氢丹参酮	丹参	36.56	0.37
DS55	MOL001601	姜黄素	丹参	38.76	0.25
B1	MOL000569	木犀草素	丹参, 红花	44.95	0.24
B2	MOL000006	poriferast-5-en-3 β -ol	丹参, 红花	39.46	0.23
C1	MOL000098	槲皮素	红花, 黄芪	52.49	0.32
C2	MOL000422	山柰酚	红花, 黄芪	34.72	0.37
HH1	MOL000449	豆甾醇	红花	64.37	0.31
HH2	MOL000953	CLR	红花	109.38	0.35
HH3	MOL002694	4-[(E)-4-(3,5-dimethoxy-4-oxo-1-cyclohexa-2,5-dienylidene)but-2-enylidene]-2,6-dimethoxycyclohexa-2,5-dien-1-one	红花	88.54	0.26
HH4	MOL002710	除虫菊酯 II	红花	45.56	0.61
HH5	MOL002712	6-羟基山柰酚	红花	43.38	0.72
HH6	MOL002714	黄芩素	红花	32.43	0.23
HH7	MOL002717	醌式红花苷	红花	31.72	0.24
HH8	MOL002721	六羟黄酮	红花	34.49	0.28
HH9	MOL002757	7,8-dimethyl-1H-pyrimido[5,6-g]quinoxaline-2,4-dione	红花	75.39	0.46
HH10	MOL002773	β -胡萝卜素	红花	45.75	0.19
HQ1	MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯	黄芪	51.03	0.20
HQ2	MOL000439	异微凸剑叶莎醇-7,2'-二-O-葡萄糖苷	黄芪	33.52	0.21
HQ3	MOL000433	FA	黄芪	41.88	0.24
HQ4	MOL000417	毛蕊异黄酮	黄芪	33.23	0.24
HQ5	MOL000392	芒柄花素	黄芪	36.16	0.25
HQ6	MOL000387	联苯双酯	黄芪	62.13	0.27
HQ7	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	黄芪	46.43	0.28
HQ8	MOL000379	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- β -D-葡萄糖苷	黄芪	45.01	0.31
HQ9	MOL000378	7-O-甲基-异微凸剑叶莎醇	黄芪	33.98	0.32
HQ10	MOL000371	3,9-二-O-甲基尼森香豌豆紫檀酚	黄芪	48.36	0.35
HQ11	MOL000354	异鼠李素	黄芪	48.47	0.36
HQ12	MOL000296	常春藤皂苷元	黄芪	43.18	0.50
HQ13	MOL000239	5,4'-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮	黄芪	39.56	0.50
HQ14	MOL000211	白桦脂酸	黄芪	60.41	0.56
HQ15	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl-octan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	黄芪	37.18	0.58

2.2 肾康注射液成分-靶点构建

肾康注射液活性成分-靶点网络共包含 339 个节点和 1 587 条边。度值排名前 5 的化合物分别是槲皮素 (C1)、山柰酚 (C2)、木犀草素 (B1)、芦荟大黄素 (A1)、(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofuran[3,2-c]chromen-3-ol (HQ7), 分别与 124、111、102、55、44 个靶点相互作用。

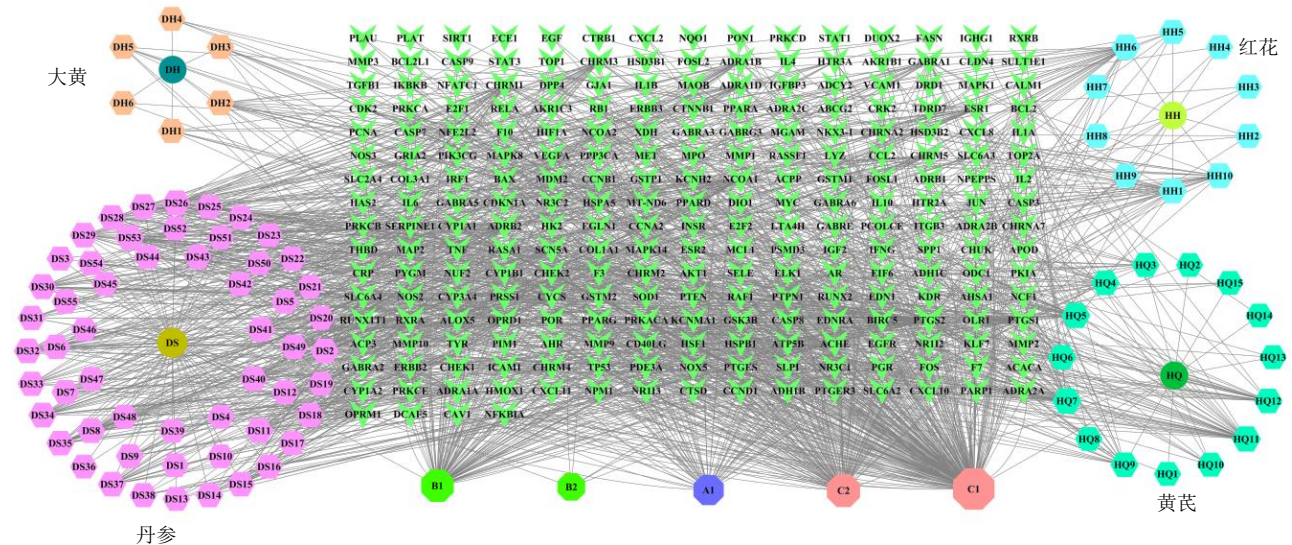


图 1 肾康注射液主要活性成分-靶点网络

Fig. 1 Network of main active components of Shenkang Injection-targets

和表 2。

2.4 肾康注射液-CRF 共有靶点 PPI 构建

通过 STRING 数据平台将肾康注射液与 CRF 93 个共有潜在靶点导入, 以获得蛋白质之间的相互作用关系。PPI 网络包含 93 个节点, 1 730 条边, 其中平均节点度值为 37.2, 结果见图 3, 其中度值越大则节点越大, 度值排名前 10 的潜在靶点包括 AKT1、VEGFA、IL6、TNF、TP53、MAPK1、CASP3、EGF、MMP9、EGFR, 上述蛋白之间的相互作用在网络中非常重要。

结果见图 1。

2.3 肾康注射液-CRF 潜在靶点预测

通过 TCMSP 平台获得肾康注射液活性成分相关靶点 1 528 个, 删除重复值, 共获得肾康注射液潜在靶点 244 个。与 OMIM、TTD、GeneCards 数据库搜索的与 CRF 相关潜在靶点取交集, 得到肾康注射液治疗 CRF 共有作用靶点 93 个, 结果见图 2

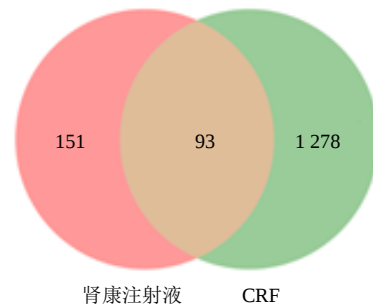


图 2 肾康注射液-CRF 共有靶点韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of Shenkang Injection-CRF common target

表 2 肾康注射液-CRF 共有靶点

Table 2 Shenkang injection-CRF shared target

名称	数量	靶点
共有靶点	93	ADRA2C、ADRB2、AKT1、ALOX5、BAX、BCL2、CASP3、CASP8、CAV1、CCL2、CCND1、CD40LG、CHRM3、COL1A1、CRP、CTNNB1、CXCL10、CXCL8、CYCS、CYP3A4、ECE1、EDN1、EDNRA、EGF、EGFR、ERBB2、ERBB3、ESR1、F3、FOS、GJA1、HIF1A、HMOX1、HTR2A、ICAM1、IFNG、IGF2、IGFBP3、IKKBK、IL10、IL1A、IL1B、IL2、IL4、IL6、INSR、ITGB3、JUN、KCNMA1、KDR、LYZ、MAPK1、MDM2、MET、MMP1、MMP2、MMP9、MPO、MT-ND6、MYC、NCF1、NFE2L2、NOS2、NOS3、NPM1、NR3C1、NR3C2、PON1、PPARG、PRKCD、PTEN、PTGS2、PYGM、RAF1、RB1、RELA、RUNX2、RXRA、SCN5A、SERPINE1、SLPI、SOD1、SPP1、STAT1、STAT3、TGFB1、THBD、TNF、TP53、TYR、VCAM1、VEGFA、XDH

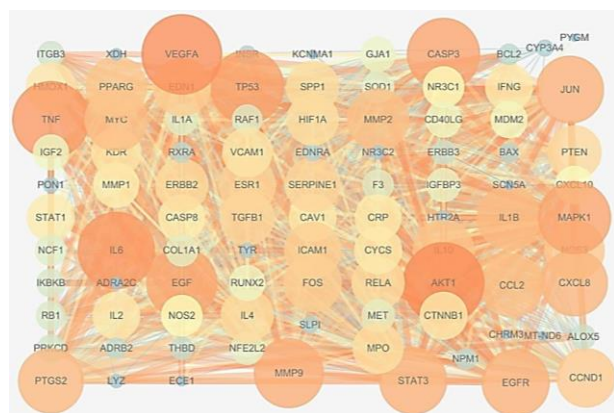


图 3 肾康注射液治疗 CRF 的 PPI 网络

Fig. 3 PPI network analysis of Shenkang Injection in treatment of CRF

2.5 GO 生物学功能分析

在 DAVID 数据库中进行 GO 富集分析, 取 $P < 0.05$ 、 $FDR < 0.05$ 的条目进行展示, 共获得 710 个 GO 条目, 其中生物过程 (biological process, BP)

包括 567 个, 细胞组成 (cellular component, CC) 包括 54 个, 分子功能 (molecular function, MF) 包括 89 个。将得分值前 10 位的进行柱状图分析, 结果见图 4。从 BP 的富集结果来讲, 肾康注射液治疗 CRF 的靶标主要参与药物反应、RNA 转录的正调控、DNA 模板化转录正调控、一氧化氮生物合成过程的正向调控、凋亡过程的负调控、基因表达的正调控、细胞增殖的正向调控、炎症反应、细胞对缺氧的反应等过程的调节; 从 CC 的富集结果来说, 肾康注射液治疗 CRF 的靶标主要集中于细胞外间隙、胞外区、细胞膜穴样内陷、受体复合物、胞液、细胞质膜、膜泡、细胞膜核周围区、细胞表面等部位; 从 MF 富集结果来说, 肾康注射液治疗 CRF 的作用主要体现在相酶结合、同蛋白结合、蛋白质结合、细胞因子活性、蛋白质二聚活性、转录因子结合、蛋白同源二聚化活性、受体信号蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白激酶结合、蛋白磷酸酶结合等方面。

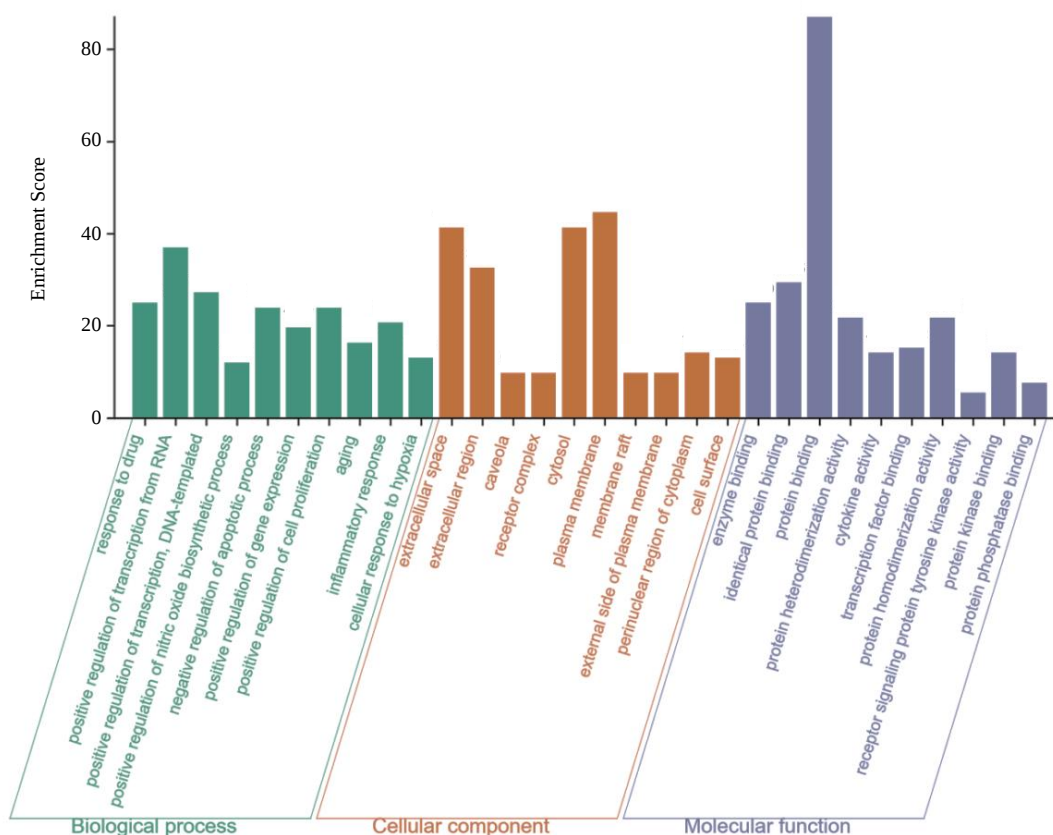


图 4 肾康注射液治疗 CRF 的 GO 分析

Fig. 4 GO analysis of Shenkang injection in treatment of CRF

2.6 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 数据库对肾康注射液治疗 CRF 的 93 个潜在靶点进行 KEGG 通路富集分析, 共富集得到 112 条信号通路 ($P < 0.05$), 选取富集结果排名前 20 的信号通路并作可视化展示, 结果见图 5。图中气泡大小代表该条通路上富集基因数的多少, 气泡颜色差异代表靶基因在该条通路上富集程度的高低。前 20 个信号通路主要涉及癌症如前列腺癌、乙型肝炎、癌症相关蛋白聚糖、胰腺癌、膀胱癌、大肠癌、小细胞肺癌, 炎症性肠病、肺结核、甲型流感病毒、代谢相关脂肪性肝病 (非酒精性脂肪肝)、黏着斑、美洲锥虫病、利什曼病、弓形虫病、HIF-1 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、TNF 信号通路等细胞过程通路, 这提示肾康注射液可能是通过调节上述多个通路发挥治疗 CRF 的作用。

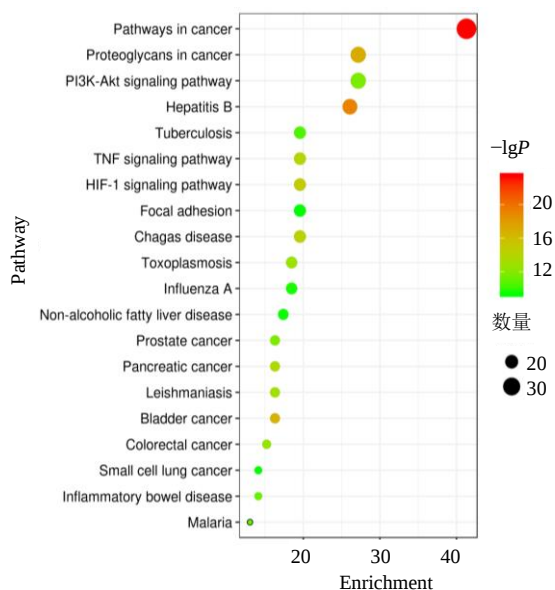


图 5 肾康注射液治疗 CRF 的 KEGG 分析

Fig. 5 KEGG analysis of Shenkang Injection in treatment of CRF

3 讨论

CRF 是多种慢性肾脏病基础上缓慢出现的一系列代谢紊乱的临床综合征。国医大师张大宁教授从事临床、科研、教学 50 余年, 作为我国近代中医肾病的奠基人, 张大宁教授治疗 CRF 具有丰富的临床经验, 张大宁教授针对 CRF 治疗多以补肾活血为主, 兼顾化湿、解毒、健脾等, 其中扶助正气, 重用黄芪; 化瘀通络, 喜用丹参; 给邪出路, 善用大黄是其主要用药心得, 这与肾康注射液的组方配伍不谋而合^[16]。本研究利用网络药理学对肾康注

射液治疗 CRF 进行研究, 以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 作为筛选条件, 共筛选出 96 个活性化合物, 作用于 244 个靶点。度值排名前 5 的化合物分别为槲皮素、山柰酚、木犀草素、芦荟大黄素、(6aR, 11aR)-9, 10-dimethoxy-6a, 11a-dihydro-6H-benzofurano[3, 2-c]chromen-3-ol, 其中槲皮素、山柰酚为红花和黄芪共同化合物, (6aR, 11aR)-9, 10-dimethoxy-6a, 11a-dihydro-6H-benzofurano[3, 2-c]chromen-3-ol 来自黄芪, 木犀草素为丹参与红花共同化合物, 芦荟大黄素为大黄与红花共有化合物。上述成分在保护肾脏疾病领域已有部分报道, 如 Chang 等^[17]采用腺嘌呤成功诱导大鼠 CRF 模型, 发现槲皮素能逆转 CRF 大鼠血清中磷、尿酸、肌酐水平、丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性, 其机制可能与调节氧化应激和 iNOS/p38MAPK 信号通路有关。山柰酚作为黄酮醇类的代表成分, 具有抗肿瘤、降血糖、保护损伤细胞等功能^[18]; 沃冠群^[19]研究发现木犀草素可有效降低糖尿病大鼠肾脏肥大指数, 减少尿蛋白排泄, 减轻肾损伤指标, 并改善大鼠肾脏病理组织学改变。

肾康注射液治疗 CRF 交集靶点共有 93 个, 说明肾康注射液是通过多靶点协同发挥治疗 CRF 药效。AKT 家族蛋白是丝氨酸/苏氨酸激酶, 调节对细胞应激诱导的许多过程的适应, 包括生存、增殖、迁移和细胞骨架组织, 在哺乳动物中, 有 3 个不同的基因编码 AKT 同源物, 即 AKT1、AKT2 和 AKT3^[20]。本研究中 PPI 网络分析结果显示 AKT1 的度值最高, 说明 AKT1 可能在肾康注射液治疗 CRF 中发挥着重要作用。Tang 等^[21]研究发现右归饮提取物可显著延缓 CRF 的进展, 改善 CRF 所致的认知功能障碍, 其机制与调节 AKT1 活性有关。GO 分析主要集中在 BP 过程, 共 567 个, 包括 RNA 转录的正调控、DNA 模板化转录正调控、一氧化氮生物合成过程的正向调控、凋亡过程的负调控、炎症反应等, 说明肾康注射液从多个生物途径参与到肾脏相关细胞的保护, 从而延缓 CRF 的进程。KEGG 分析表明多条通路与 CRF 相关, 包括 PI3K-Akt、TNF、HIF-1 等信号通路。有研究发现 PI3K-Akt 信号通路通过抑制 Ser-9 位点 GSK3 β 的磷酸化, 介导了肝细胞生长因子诱导的肾小管上皮细胞调节激活正常 T 细胞表达和分泌表达的抑制, 从而减轻 CRF 大鼠的肾炎症^[22]。HIF-1 是一类氧敏感蛋白, 通过调节细胞对缺氧的转录反应, 在低氧相关的生理状态和病理过程中发挥作用, 尤其是在缺血组织中可

介导血管的生成,降低缺血引起的损伤等作用,这可能是肾康注射液治疗 CRF 的另一途径之一^[23]。综上,本研究通过网络药理学探讨肾康注射液治疗 CRF 的作用机制,进一步证实了中药复方多成分、多效用、多靶点协调治疗疾病的过程,肾康注射液可能通过槲皮素、山柰酚、木犀草素、芦荟大黄素等化学成分与 AKT1、VEGFA、IL6、TNF、TP53、MAPK1、CASP3 等蛋白结合,进而通过调控 PI3K-Akt、TNF、HIF-1 等信号通路来发挥治疗 CRF 作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王丽荣,马晓燕. 中医药治疗慢性肾衰研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2017, 38(10): 81-83.
- [2] 刘宇. 郭立中教授从温阳辨治慢性肾功能衰竭的临床经验研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [3] Mills K T, Xu Y, Zhang W D, et al. A systematic analysis of worldwide population-based data on the global burden of chronic kidney disease in 2010 [J]. *Kidney Int*, 2015, 88(5): 950-957.
- [4] Nugent R A, Fathima S F, Feigl A B, et al. The burden of chronic kidney disease on developing nations: A 21st century challenge in global health [J]. *Nephron Clin Pract*, 2011, 118(3): c269-c277.
- [5] Xue L, Pan Z, Yin Q, et al. Liraglutide promotes autophagy by regulating the AMPK/mTOR pathway in a rat remnant kidney model of chronic renal failure [J]. *Int Urol Nephrol*, 2019, 51(12): 2305-2313.
- [6] Shlipak M G, Tummalaipalli S L, Boulware L E, et al. The case for early identification and intervention of chronic kidney disease: Conclusions from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Controversies Conference [J]. *Kidney Int*, 2021, 99(1): 34-47.
- [7] Chang Y H, Wu C H, Chou N K, et al. High plasma C-terminal FGF-23 levels predict poor outcomes in patients with chronic kidney disease superimposed with acute kidney injury [J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2020, doi: 10.1177/2040622320964161.
- [8] 张宸,高贤娟,杨楠,等. 益肾降浊胶囊治疗慢性肾功能衰竭的实验研究 [J]. 人参研究, 2020, 32(1): 9-12.
- [9] 陈香美,李平,孙雪峰,等. 肾康制剂(肾康注射液、肾康栓)治疗慢性肾脏病合理应用专家共识 [J]. 中西医结合杂志, 2019, 39(7): 784-786.
- [10] 莫嘉浩,綦向军,许洪彬,等. 中药注射液治疗慢性肾功能不全的贝叶斯网状 Meta 分析 [J]. 中国中药杂志, 2020, doi: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20200622.501.
- [11] 高振宇,马艳. 肾康注射液联合血液透析治疗慢性肾功能衰竭的临床疗效评价 [J]. 中国医药指南, 2019,17(11): 205-206.
- [12] 李爽. 肾康注射液治疗慢性肾功能衰竭 CKD3~4 期的临床疗效观察 [J]. 中国医药指南, 2020,18(20): 178-179.
- [13] 谢静,田野,刘杨,等. 基于网络药理学探讨痰咳净方防治新型冠状病毒肺炎的可行性 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(4): 591-600.
- [14] 王露露,李冰,王圳伊,等. 基于“整体观”系统生物学技术在中药研究中的应用进展 [J]. 中草药, 2020, 51(19): 5053-5064.
- [15] 赵静,田赛赛,杨健,等. 清肺排毒汤治疗新型冠状病毒肺炎机制的网络药理学探讨 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 829-835.
- [16] 赵亚,焦剑,樊威伟. 张大宁治疗慢性肾功能衰竭用药经验 [J]. 中医杂志, 2020, 61(21): 1867-1870.
- [17] Chang X Y, Cui L, Wang X Z, et al. Quercetin attenuates vascular calcification through suppressed oxidative stress in adenine-induced chronic renal failure rats [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 5716204.
- [18] 杨秦,叶扬,肖洪,等. 山柰酚功能及提取工艺研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2018, 31(3):12-16.
- [19] 沃冠群. 木犀草素通过激活 Nrf2 途径在糖尿病肾病进展中的治疗作用 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [20] Canaud G, Bienaimé F, Viau A, et al. AKT2 is essential to maintain podocyte viability and function during chronic kidney disease [J]. *Nat Med*, 2013, 19(10): 1288-1296.
- [21] Tang Q, Ke H, Wu C, et al. Aqueous extract from You-Gui-Yin ameliorates cognitive impairment of chronic renal failure mice through targeting hippocampal CaMKII α /CREB/BDNF and EPO/EPOR pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 239: 111925.
- [22] Gong R J, Rifai A, Dworkin L D. Activation of PI3K-Akt-GSK3 β pathway mediates hepatocyte growth factor inhibition of RANTES expression in renal tubular epithelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 330(1): 27-33.
- [23] 王莘莘,孔繁平,陈学群,等. 低氧细胞应激的 HIF-1 信号通路 [J]. 浙江大学学报: 医学版, 2011,40(5): 559-566.

【责任编辑 刘东博】