

• 实验研究 •

基于网络药理学和分子对接方法探讨雷公藤对狼疮性肾炎的效毒作用机制

包君丽^{1,2}, 李伟^{1,2}, 彭坤明³, 郑义³, 黄培冬^{4*}

1. 青海大学 医学院, 青海 西宁 810001

2. 青海大学 青海省糖脂代谢疾病防控中医药重点实验室, 青海 西宁 810001

3. 中国科学院大学深圳医院, 广东 深圳 518106

4. 云南中医药大学 第二临床医学院, 云南 昆明 650500

摘要: **目的** 基于网络药理学和分子对接方法探讨雷公藤治疗狼疮性肾炎的效毒作用机制。**方法** 通过TCMSP、Uniprot、STITCH等数据库查询雷公藤的化合物分子及其主要靶点, 并与狼疮性肾炎相关基因做对比, 获得药物靶点与疾病相关的共有基因, 构建药物与疾病之间的网络关系。通过String数据库获取潜在作用靶标之间的相互作用关系, 利用Cytoscape软件构建中药-成分-疾病网络。运用Clusterprofiler程序分别进行GO基因富集分析和KEGG通路富集分析。**结果** 从雷公藤中筛选得到44个候选活性成分, 包括雷公藤甲素、雷公藤多苷、雷公藤红素等; 潜在作用靶标228个, 其中治疗靶标152个, 毒性靶标76个。GO富集分析结果显示, 治疗靶标主要与细菌来源分子的反应(response to molecule of bacterial origin)、对脂多糖的反应(response to lipopolysaccharide)、胞浆钙离子浓度的正调控(positive regulation of cytosolic calcium ion concentration)等有关。治疗狼疮性肾炎的相关基因参与通路共125条, 具有潜在不良反应的相关基因通路共130条。分子对接结果表明, 5 α -benzoyl-4 α -hydroxy-1 β , 8 α -dinicotinoyl-dihydro-agarofuran、triptofordin B1、triptofordinine A2与SYK有较好的结合性。**结论** 基于网络药理学方法和分子对接挖掘雷公藤对狼疮性肾炎治疗靶点和毒性靶点、治疗作用通路和毒性作用通路, 为研究雷公藤对狼疮性肾炎效毒作用机制提供了新的研究方法。

关键词: 雷公藤; 狼疮性肾炎; 网络药理学; 分子对接; 雷公藤甲素

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)09-1765-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.09.001

Study on the mechanism of toxic effect of *Tripterygium wilfordii* on lupus nephritis based on network pharmacology and molecular dockingBAO Jun-li^{1,2}, LI Wei^{1,2}, PENG Kun-ming³, ZHENG Yi³, HUANG Pei-dong⁴

1. Medical College of Qinghai University, Xining 810001, China

2. Qinghai Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Prevention and Control of Glucose and Lipid Metabolism Diseases, Qinghai University, Xining 810001, China

3. University of Chinese Academy of Sciences Shenzhen Hospital, Shenzhen 518106, China

4. The Second Clinical Medical College, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: Objective To explore the possible mechanism of *Tripterygium wilfordii* in treatment of lupus nephritis based on network pharmacology and molecular docking methods. **Methods** The main active components and the targets of *Tripterygium wilfordii* were searched and screened from TCMSP, Uniprot, and STITCH databases. By comparing with lupus nephritis related genes, common genes related to drug targets and diseases were obtained, and the network relationship between drugs and diseases was constructed. The interaction relationship between potential targets was obtained by String database, and the network of TCM-component-disease was constructed by Cytoscape software. Clusterprofiler program was used to analyze GO gene enrichment and KEGG pathway enrichment

收稿日期: 2021-04-14

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82160938); 云南省卫生健康委2020年高层次中医药后备人才(针灸治疗慢性肾脏病方向)孵化项目(云卫中医发展发[2021]1号); 广东省中医药局科研项目(20191287); 深圳市光明区科技局课题(GM2019010003)

作者简介: 包君丽(1991—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为中医药大数据分析。E-mail: woshikongzhixiang@163.com

***通信作者:** 黄培冬, 男, 副教授, 研究方向为中医外治法治疗慢性肾脏病的临床与基础研究。E-mail: yeruyun@163.com

respectively. **Results** Forty-four candidate active ingredients were screened from *Tripterygium wilfordii*, mainly including triptolide, tripterygium glycosides, and celastrol. There were 228 potential targets, including 152 therapeutic targets and 76 bacterial origin, response to lipopolysaccharide, positive regulation of cytosolic calcium ion concentration. There were 125 related gene pathways involved in the treatment of lupus nephritis, and 130 related gene pathways with potential adverse reactions. Molecular docking results show that, 5 alpha-benzoyl-4alpha-hydroxy-1 beta, 8 Alpha-dinicotinoyl-Dihydro - Agarofuran, Triptofordin B1, Triptofordinine A2 showed good binding properties to SYK. **Conclusion** Based on the methods of network pharmacology and molecular docking, the therapeutic target, toxic target, therapeutic pathway and toxic pathway of *Tripterygium wilfordii* on lupus nephritis provide a new research method for the study of the mechanism of *Tripterygium wilfordii*.

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; lupus nephritis; network pharmacology; molecular docking; triptolide

狼疮性肾炎是指系统性红斑狼疮合并双肾不同病理类型的免疫性损害,伴有明显肾脏损害临床表现的一种疾病^[1],其临床表现除系统性红斑狼疮所有症状外,还有血尿、肾功能不全、蛋白尿等^[2]。临床表现轻微者,可暂不予特殊治疗,重型狼疮性肾炎患者则应用足量激素和(或)联合不同免疫抑制剂治疗^[3],然而免疫抑制剂存在多种不良反应^[4]。

古代中医文献中尚无狼疮性肾炎的具体名称,根据患者不同的临床表现,将本病归属“肾痹”“阴阳毒”等范畴^[5]。已有报道显示雷公藤内酯、雷公藤多苷、雷公藤红素治疗狼疮性肾炎疗效显著^[6]。吕洋^[7]对雷公藤制剂治疗狼疮性肾炎进行 Meta 分析,结果为雷公藤制剂治疗狼疮性肾炎有较为明显的效果。然而雷公藤副作用也很多,长期服用雷公藤制剂会诱发明显的肝肾毒性^[8]。雷公藤所含化合物的多样性,致使其药物靶标及作用环节十分复杂。常规药理和毒理学研究方法很难全面揭示其药理和毒理机制,这对于雷公藤治疗狼疮性肾炎带来很大局限性。

网络药理学是通过大数据挖掘的方法,利用生物信息学的研究思路对药物进行多成分、多靶点、多途径的网络作用关系分析,结合目前已经验证并且发表过的文献数据进行分析,可以确保结论的科学性和研究角度的多样性,尽量准确的探究药物治疗相关疾病的内在作用机制,为中医药的研究及应用提供方向^[9-10]。分子对接是通过受体的特征以及受体和药物分子之间的相互作用方式来进行药物设计的方法,主要研究分子间(如配体和受体)相互作用,并预测其结合模式和亲和力的一种理论模拟方法^[11]。本研究运用网络药理学的方法筛选雷公藤的有效活性成分,预测其对狼疮性肾炎治疗作用和毒性作用的相关靶标和通路,图示化的方式展示疾病、药物、化合物成分、作用靶点、靶点富集通路的相互作用关系,全面分析探讨雷公藤对狼疮性

肾炎的可能治疗机制和毒性机制。

1 资料与方法

1.1 药物活性成分的收集

利用中药系统药理数据库和分析平台(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/TCMSP.php>)^[12]以“雷公藤”为关键词在“herb name”条目中检索其化学成分,根据化合物的药动学分布、吸收、代谢、外排(ADME)参数分析,结合到后期用药量化分析,并设定口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18,筛选获得雷公藤的主要活性成分。

1.2 活性成分候选靶标对应基因的收集

首先,通过 TCMSP 数据库查询雷公藤潜在作用靶点蛋白全称,借助 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)^[13]对潜在靶点进行基因名称的注释;同时将雷公藤的潜在化合物分子按照名称通过 STITCH 数据库(<http://stitch.embl.de/>)^[14]查询与其对应的靶点基因;下载由 TCMSP 查询得到的化合物分子 MOL2 的格式文件,依次输入到 Swiss Target Prediction (<http://www.swiss-target-prediction.ch/>)^[15]查询相应靶点,最后将以上数据库查询结果整理合并,尽最大可能确保数据的完整性。

1.3 狼疮性肾炎相关靶标基因的收集

通过 PubMed 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)查询“lupus nephritis”的主题词,分别为“lupus glomerulonephritis”“nephritis, lupus”“lupus nephritides”“nephritides, lupus”“glomerulonephritis, lupus”“glomerulonephritides, lupus”“lupus glomerulonephritides”,检索人类基因组注释(GeneCards)数据库(<https://www.genecards.org/>)^[16]和《人类孟德尔遗传》数据库(<https://omim.org/>)^[17],将得到的疾病相关基因进行整理,作为狼疮性肾炎疾病相关基因。

1.4 活性成分-作用靶标网络构建与分析

剔除掉重复及与疾病没有相关性的靶点,再将

剩余的活性成分与狼疮性肾炎治疗作用靶标及相关通路构建相应的数据表,以构建的关系数据表作为 Cytoscape 3.7.2 的输入文件构建化合物及潜在作用靶点网络图,展示活性成分与作用狼疮性肾炎靶标间的作用关系。

1.5 雷公藤治疗靶标和毒性靶标的收集

利用 R 语言的 Venn Diagram 函数将狼疮性肾炎的疾病基因与雷公藤主要活性成分所对应的候选靶标基因取交集,获取共有基因作为雷公藤治疗狼疮性肾炎的潜在作用靶标。拟定雷公藤的主要中毒症状^[18]: (1) 头昏、头痛、疲乏、肢麻、肌痛、痉挛、抽搐; (2) 胸闷、心悸、心痛、气短、紫绀、休克; (3) 恶心、呕吐、腹胀、腹痛、腹泻、便秘、黄疸。通过 GeneCards 数据库在“Key words”条目中以“dizziness”“headache”“fatigue”“numbness”“myalgia”“cramps”“convulsions”“chest tightness”“palpitations”“chest pain”“shortness of breath”“cyanosis”“shock”“nausea”“vomiting”“bloating”“abdominal pain”“diarrhea”“constipation”“jaundice”为关键词依次检索其对应的基因。再利用 R 语言的 Venn Diagram 函数将毒性症状基因与雷公藤作用于狼疮性肾炎的靶标基因取交集,获取共有基因作为雷公藤对狼疮性肾炎毒性作用靶标,剩下的靶标基因为雷公藤对狼疮性肾炎治疗作用靶标。

1.6 靶蛋白相互作用 (PPI) 网络图构建

将雷公藤作用于狼疮性肾炎的靶标基因导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>)^[19], 获取蛋白互作关系,再将所得数据导入 Cytoscape 3.7.2 软件进行可视化处理,通过 Network Analyzer 工具进行网络分析从而获得度值 (degree),绘制 PPI 网络图,并以 PNG 格式导出。

1.7 GO 富集及 KEGG 通路分析

将雷公藤对狼疮性肾炎的治疗靶标基因和毒性靶标基因利用 R 语言的 ClusterProfiler 程序包分别进行 GO 基因富集分析和 KEGG 通路富集分析,设定 $P \leq 0.05$ 得到相应的生物学过程 (BP) 和 KEGG 通路相关数据,然后将所得 KEGG 数据导入 Cytoscape 3.7.2 进行可视化图形绘制。

1.8 分子对接

以 PDB 数据库 (<http://www.pdb.org/>) 为蛋白质晶体数据源,下载雷公藤重要化合物结合的候选蛋白质的晶体结构,并用 MOE 软件进行修饰,以去除配体、添加氢、去除水、优化和修补氨基酸,并使

所有候选靶点的能量最小化。使用 MOE 来测试雷公藤化合物与候选靶蛋白之间的对接精度,因为它具有较高的准确性和一致性。最佳对接姿态为预测构象与观测 X 射线晶体构象的均方根偏差 (RMSD) 最小。 $RMSD \leq 4 \text{ \AA}$ ($1 \text{ \AA} = 0.1 \text{ nm}$) 的模型被认为是可靠的, $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ 的模型被认为是准确的。整体评估的最终得分是 E_score2,对应的数值越小,分子之间的结合能越小,这意味着两者之间有更好的结合性,一般小于 -5 kcal/mol ($1 \text{ kcal} = 4.2 \text{ J}$)。同时,用不同的颜色标记小分子的结构,观察两者之间的结构空间,若有较大的重复区域,这证明了小分子构象与配体之间有很大的相似性。

2 结果

2.1 雷公藤候选活性成分及候选靶标

TCMSP 数据库中检索得到活性成分共 51 个,同时由 TCMSP 数据库检索这些候选活性成分的靶标,整理标准化后共有靶标 64 个,由 Stitch 数据库检索到靶标共有 18 个,由 Swiss Target Prediction 获取的靶标共有 771 个,将 3 个数据库搜索得到的靶标汇总去重后共有靶标 451 个,再剔除没有靶标的化合物成分,共有 44 个,见表 1。

2.2 药物活性成分与狼疮性肾炎相关靶标预测

GeneCards 数据库中所得狼疮性肾炎相关基因 1 539 个,OMIM 数据库所得狼疮性肾炎相关基因 68 个,去重后共得相关基因 1 579 个。再将雷公藤候选靶标与狼疮性肾炎相关基因取交集,获得雷公藤作用于狼疮性肾炎的靶标 228 个。

2.3 药物活性成分对疾病治疗与毒性靶标预测

GeneCards 数据库中所获得雷公藤毒性症状靶标有 558 个 (相关系数 > 20),将其与雷公藤作用于狼疮性肾炎的 228 个靶标做对比,筛选出雷公藤对狼疮性肾炎毒性靶标 76 个。剩下的 152 个靶标为雷公藤对狼疮性肾炎的治疗靶标。

2.4 药物 - 化合物 - 靶点网络构建

将雷公藤活性成分和狼疮性肾炎的作用靶标导入 Cytoscape 3.7.2 软件,构建药物 - 成分网络。所构建网络共包括 274 个节点,其中 44 个活性成分节点,228 个作用靶标节点,1 410 条边线。通过图 1 可以看出雷公藤主要通过多成分对应多靶标来发挥对狼疮性肾炎治疗作用和毒性作用。

2.5 靶蛋白互作网络图

将雷公藤对狼疮性肾炎的治疗作用靶标基因导入 String 蛋白互作网络数据库获取靶标蛋白互作

关系图(图2), 下载相应蛋白互作网络源数据, 将其导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 菜单栏选择 tools, 运用 analysis network, 配置节点大小和颜色以跟随 degree 进行连续性变化, 再配置边的颜色和粗细跟随 combine_score 进行连续性变化, 根据节点度数将靶基因布局为4个同心圆, 其中最外围的节点度数小于10, 第3层的靶基因节点度值介于10~20, 第2层的靶基因节点度值介于20~30, 最里层的节

点度值 ≥ 30 。此网络图共包括151个节点, 1067条边, 度值越大则节点越大, 颜色越深, 根据靶蛋白互作网络图计算得出相关节点度数的平均值为14, 根据初次筛选大于节点度数平均值原则, 选取节点度数大于14的靶点(共计66个)为重点研究, 如JUN、PTPRC、CASP3、MAPK8、RHOA、LYN、VCAM1、NFKB1、TLR9等, 认为这些靶标与雷公藤治疗狼疮性肾炎的相关性较大。

表1 候选活性成分

Table 1 Candidate active ingredient

MOL 编号	化合物名称	OB/%	DL	MOL 编号	化合物名称	OB/%	DL
MOL003182	(+)-medioresinol di-O-beta-D-glucopyran- oside_qt	60.69	0.62	MOL003211	celaxanthin	47.37	0.58
MOL003185	(1R,4aR,10aS)-5-hydroxy-1-(hydroxylmet- hyl)-7-isopropyl-8-methoxy-1,4a- dimethyl-4,9,10,10a-tetrahydro-3H- phenanthren-2-one	48.84	0.38	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75
MOL003283	(2R,3R,4S)-4-(4-hydroxy-3-methoxy- phenyl)-7-methoxy-2,3-dimethylol- tetralin-6-ol	66.51	0.39	MOL003225	hypodiolide A	76.13	0.49
MOL007535	(5S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-17-[(1R,4R)-4- ethyl-1,5-dimethylhexyl]-10,13- dimethyl-2,4,5,7,8,9,11,12,14,15,16,17- dodecahydro-1H-cyclopenta [a] phen- anthrene-3,6-dione	33.12	0.79	MOL000422	kaempferol	56.81	0.39
MOL007415	[(2S)-2-[(2S)-2-(benzoylamino)-3-phenyl propanoyl]amino]-3-phenylpropyl acetate	58.02	0.52	MOL000211	mairin	41.88	0.24
MOL003266	21-hydroxy-30-norhopan-22-one	34.11	0.77	MOL005828	nobiletin	55.38	0.78
MOL009386	3,3'-bis-(3,4-dihydro-4-hydroxy-6- methoxy)-2H-1-benzopyran	52.11	0.54	MOL011169	peroxyergosterol	61.67	0.52
MOL002058	40957-99-1	57.20	0.62	MOL003278	salaspermic acid	44.39	0.82
MOL003198	5alpha-benzoyl-4alpha-hydroxy-1beta,8 alpha-dinicotinoyl-dihydro-agarofuran	35.26	0.72	MOL000449	stigmasterol	32.19	0.63
MOL003199	5,8-dihydroxy-7-(4-hydroxy-5-methyl- coumarin-3)-coumarin	61.85	0.54	MOL003229	triptinin B	43.83	0.76
MOL003184	81827-74-9	45.42	0.53	MOL003231	triptoditerpenic acid B	34.73	0.32
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	MOL003232	triptofordin B1	40.02	0.36
MOL003208	celafurine	72.94	0.44	MOL003233	triptofordin B2	39.55	0.84
MOL003209	celalocinnine	83.47	0.59	MOL003234	triptofordin C2	107.71	0.76
MOL003210	celapanine	30.18	0.82	MOL003235	triptofordin D1	30.16	0.76
				MOL003236	triptofordin D2	32.00	0.75
				MOL003238	triptofordin F1	30.38	0.69
				MOL003239	triptofordin F2	33.91	0.60
				MOL003241	triptofordin F4	33.62	0.67
				MOL003242	triptofordinine A2	31.37	0.67
				MOL003187	triptolide	30.78	0.47
				MOL003192	triptonide	51.29	0.68
				MOL003244	triptonide	67.66	0.70
				MOL003245	triptonoditerpenic acid	68.45	0.68
				MOL003280	TRIPTONOLIDE	42.56	0.39
				MOL003248	triptonoterpene	49.51	0.49
				MOL003189	wilforlide A	48.57	0.28
				MOL003196	tryptophenolide	35.66	0.72
						48.50	0.44

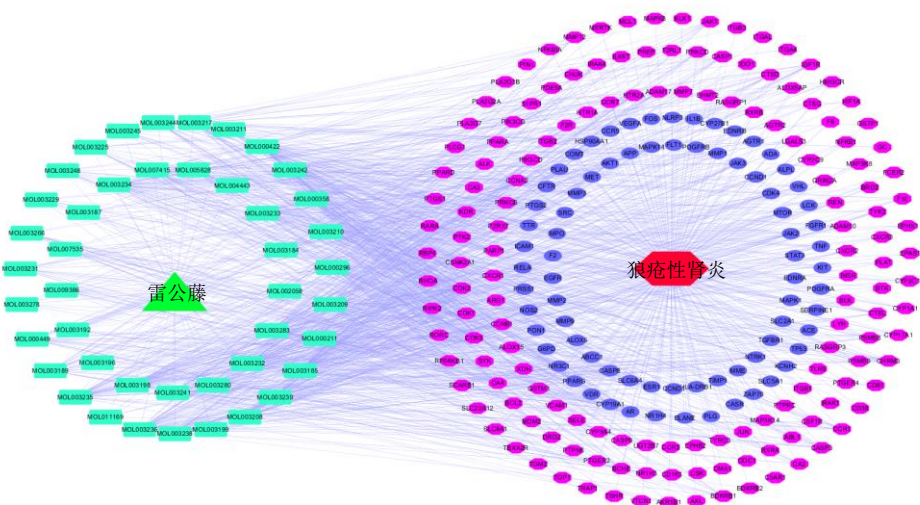


图 1 药物-化合物-靶点网络图

Fig. 1 Drug-compound-target network diagram

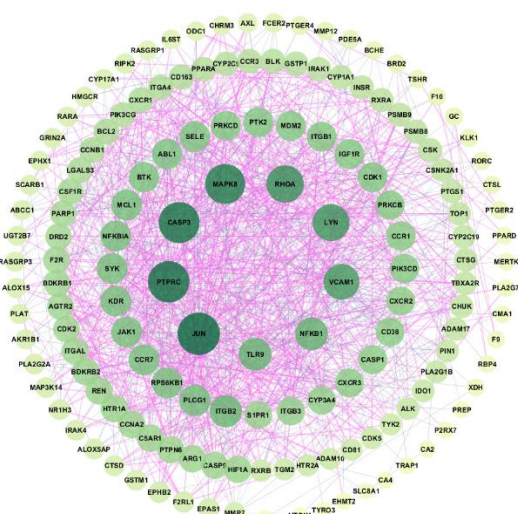


图 2 靶蛋白互作网络图

Fig. 2 Target protein interaction network

2.6 雷公藤对狼疮性肾炎的治疗靶标和毒性靶标生物功能及通路分析

GO 富集分析结果显示, 治疗靶标生物过程 (biological process, BP) 分析富集基因数量较大的有对细菌来源分子的反应 (response to molecule of bacterial origin)、对脂多糖的反应 (response to lipopolysaccharide)、胞浆钙离子浓度的正调控 (positive regulation of cytosolic calcium ion concentration)、调节胞质钙离子浓度 (regulation of cytosolic calcium ion concentration)、细胞钙离子稳态 (cellular calcium ion homeostasis) 等。毒性靶标的 BP 分析富集基因数量较大的有对脂多糖的反应 (response to lipopolysaccharide)、对细菌来源分子的

反应 (response to molecule of bacterial origin)、对营养水平的反应 (response to nutrient levels)、生殖结构发育 (reproductive structure development)、生殖系统发育 (reproductive system development) 等, 见图 3。治疗狼疮性肾炎的相关基因参与的 KEGG 通路共 125 条, 具有潜在不良反应的相关基因 KEGG 通路共 130 条, 其中主要通路见图 4。

2.7 分子对接

为了验证狼疮性肾炎中雷公藤靶点的候选化合物, 测试了 5 alpha-benzoyl-4alpha-hydroxy-1 beta, 8 alpha-dinicotinoyl-dihydro-agarofuran、triptofordin B1、triptofordinine A2 和潜在靶蛋白 SYK (PDB:6hm7) 之间的对接精度。分子对接分析结果表明, 靶蛋白和对应的化合物分子的得分小于 -5 kcal/mol, 表明靶蛋白和化合物分子之间有良好的结合性, 见图 5。

3 讨论

本研究采用中药网络药理学研究方法, 借助有关数据库和软件对雷公藤对狼疮性肾炎的治疗作用机制和毒性作用机制进行探讨分析。根据研究结果显示, 雷公藤作用于治疗狼疮性肾炎的潜在活性成分共 51 个, 剔除没有靶标的化合物成分, 共有 44 个。潜在作用靶标 228 个, 其中治疗靶标 152 个, 毒性靶标 76 个。根据这些靶标进一步收集雷公藤对狼疮性肾炎治疗作用和毒性作用的生物过程及富集通路, 由此探究其治疗作用机制和毒性作用, 为治疗狼疮性肾炎提供证据支持, 同时也为雷公藤作为治疗狼疮性肾炎实验研究提供新的思考方式。

本研究所获取的雷公藤治疗狼疮性肾炎的主要活性成分包括雷公藤甲素 (triptolide)、雷公藤多苷 (tripterygium glycoside)、雷公藤红素 (tripte-rine) 等。秦登优等^[20]的动物实验结果表明, 雷公藤内酯通过 C/EBP α 抑制 IL-12/IL-23 的表达来改善狼疮性肾炎小鼠。许晨等^[21]的动物实验结果表明, 雷公藤红素是通过增加小鼠肾组织局部基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 而抑制转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 及基质金属蛋白酶抑制因子-2 (TIMP-2) 的表达而降低肾脏 I、IV 型胶原的沉积, 对该狼疮性肾炎模型的肾小球硬化具有明确的保护作用。

根据“靶蛋白互作网络图”及文献资料分析, 雷公藤治疗狼疮性肾炎可能通过作用 Toll 样受体 9 (TLR9)、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1)、布鲁顿酪氨酸激酶 (BTK)、脾酪氨酸激酶 (SYK) 等 4 个靶标来发挥作用。TLR9 是先天性免疫模式识别的

主要受体之一, 当相应配体激活 TLR9 后机体将产生强烈的免疫应答反应, 所以 TLR9 在变态反应性疾病治疗方面将会有很多应用。徐瑞等^[22]临床观察结果显示, TLR9 在狼疮性肾炎患者肾组织中的表达显著高于正常人, TLR9 的表达差异性说明其有可能作为治疗狼疮性肾炎的新的探究点。VCAM-1 作为一种重要的细胞黏附分子归属免疫球蛋白超家族, Gasparin 等^[23]临床研究发现, 尿 VCAM-1 可作为狼疮性肾炎活动期的可靠指标。BTK 是有造血细胞类型中表达的关键信号酶, 仅次于 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞。Ariza 等^[24]动物实验发现, BTK 抑制剂可逆转狼疮性肾炎肾脏改变, 表明 BTK 靶点确实参与了治疗过程。SYK 长期作为细胞信号转导因子, 特别是免疫信号转导因子受到广泛关注。Kitai 等^[25]动物实验发现, SYK 抑制剂可抑制狼疮性肾炎的肾脏病变, 表明 SKY 是其潜在治疗靶点。

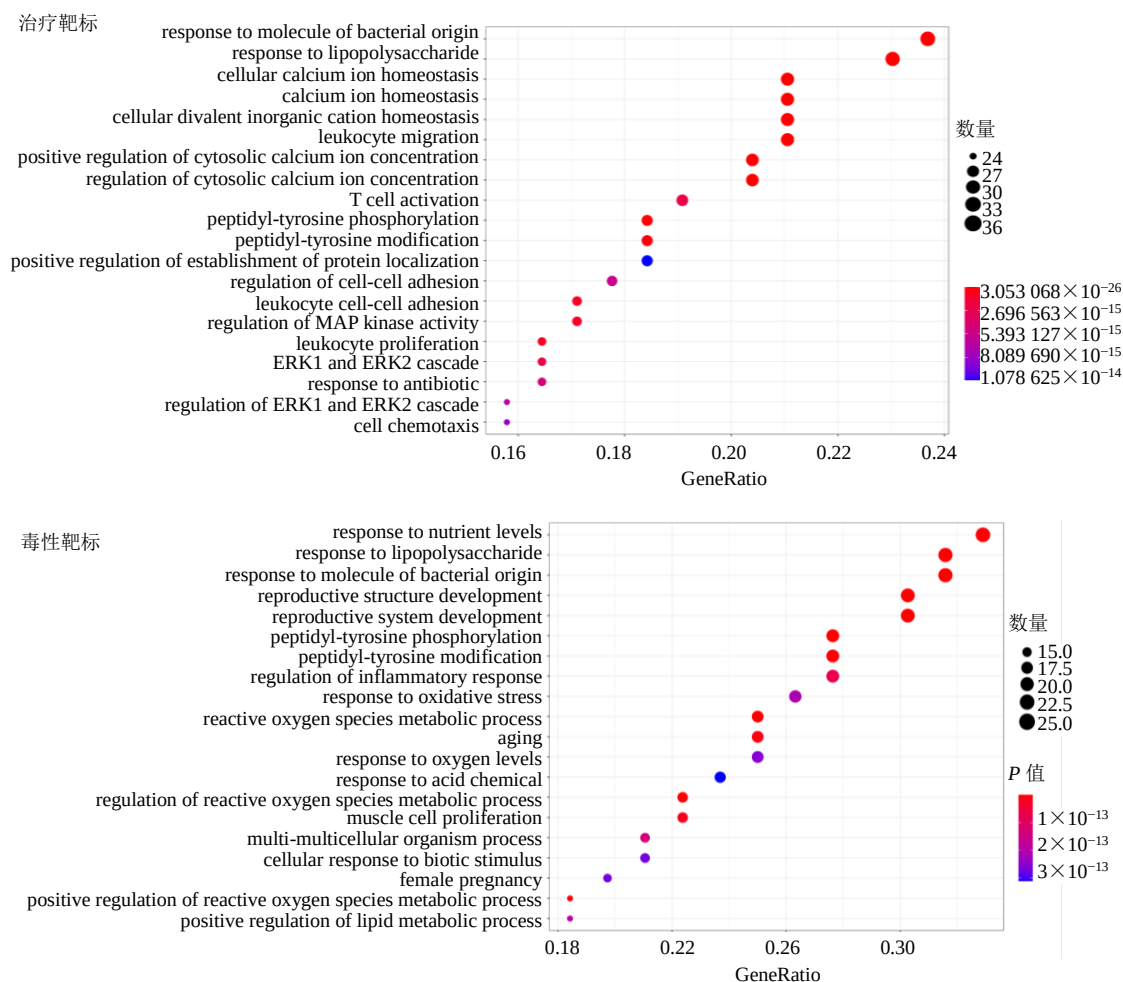


图 3 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis

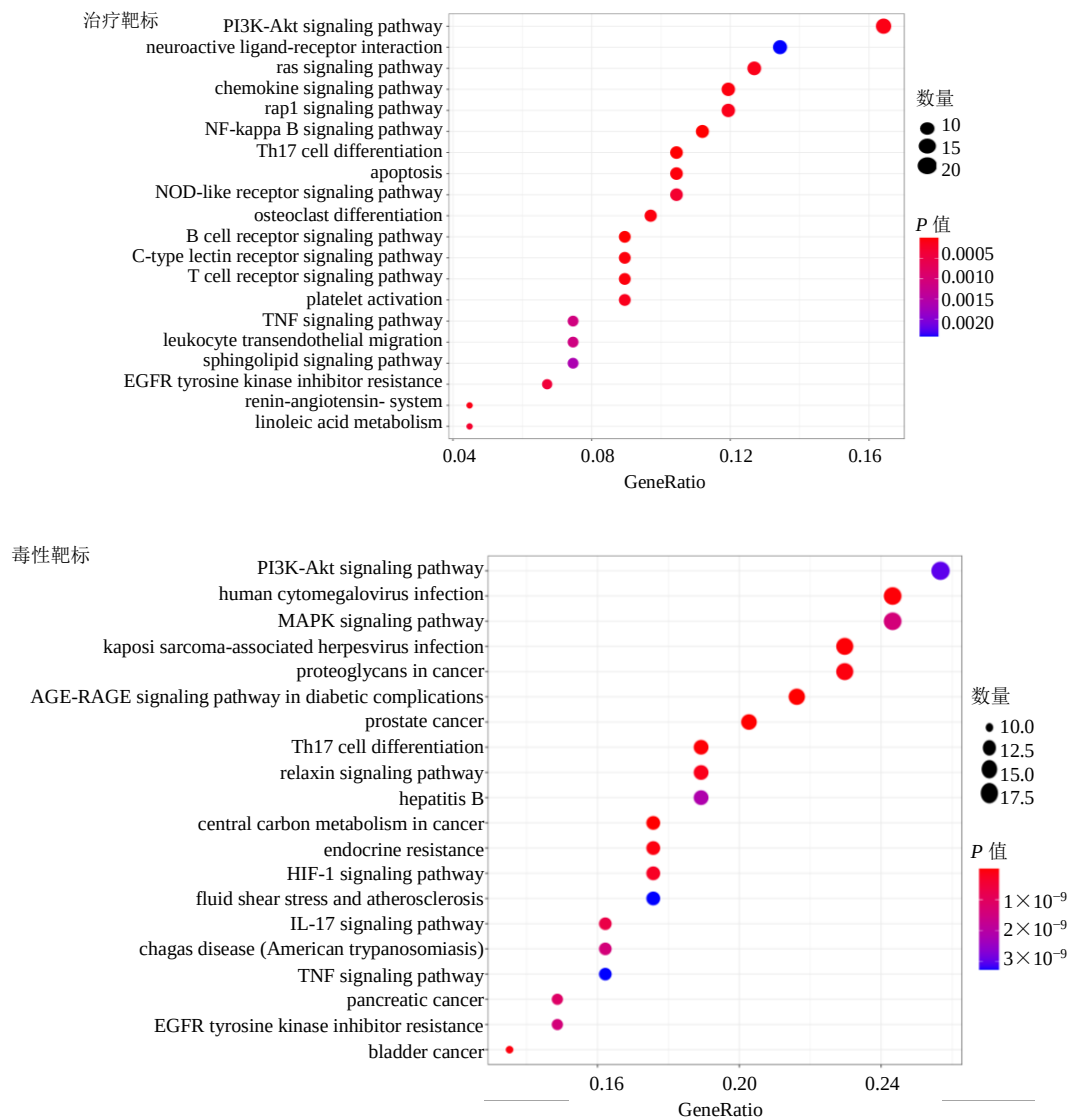


图 4 KEGG 富集分析

Fig. 4 KEGG enrichment analysis

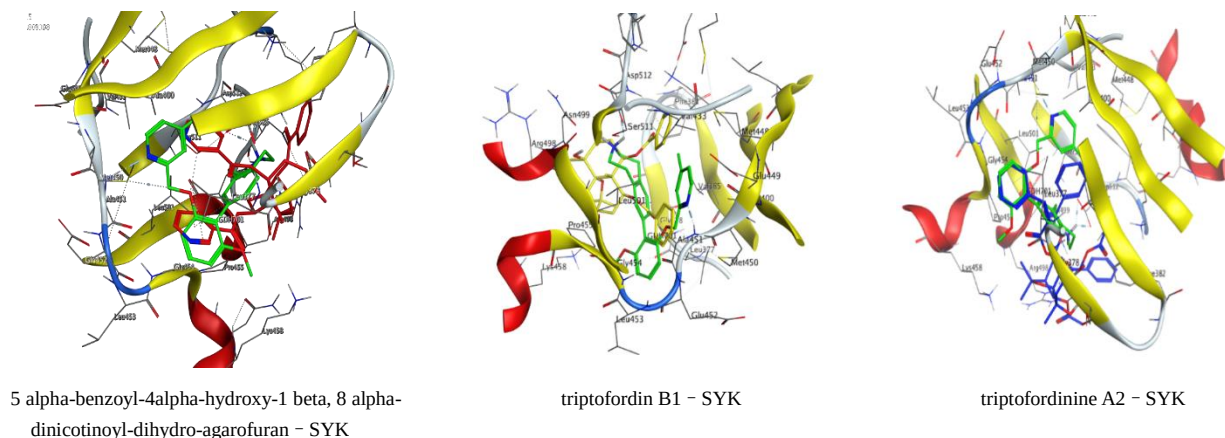


图 5 分子对接模式图

Fig. 5 Molecular docking pattern diagram

通过文献检索及 KEGG 通路富集分析可知,雷公藤对狼疮性肾炎的治疗作用主要涉及磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (pI3K-Akt)、P38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK)、Toll 样受体/核转录因子 (TLR/NF- κ B)、两面神激酶 2/信号转导及转录活化因子 3 (Jak2-Stat3) 等。潘红梅等^[26]的临床观察结果表明,TLR/NF- κ B 通路激活与狼疮性肾炎的发生及病变的发展可能有关。党文振^[27]的动物实验发现,青蒿琥酯显著抑制狼疮性肾炎小鼠肾脏中 Jak2-Stat3 信号通路活性,揭示 Jak2-Stat3 信号通路是狼疮性肾炎的关键通路。任雪飞等^[28]的动物实验发现,狼疮性肾炎模型小鼠肾组织 PI3K/Akt 信号通路被激活,提示 PI3K/Akt 信号通路可能参与了狼疮性肾炎的发病过程。刘志纯等^[29]的细胞实验结果表明, P38MAPK 信号通路参与狼疮性肾炎的发生发展过程。

现代研究表明,雷公藤的主要化学成分具有疗效与毒性的双重作用^[30]。研究表明,二萜类成分、生物碱类成分、三萜类成分的毒性依次减弱。其中,二萜类成分毒副作用主要表现在对心、肝、胃肠道及骨髓的影响,生物碱类物质主要是对于肝的损伤和红细胞的破坏、引起进行性贫血^[31]。雷公藤主要成分对多种细胞存在凋亡作用,这是产生毒性的机制。Yao 等^[32]发现,雷公藤甲素可下调抗细胞凋亡 Bcl-2 蛋白水平,上调促细胞凋亡 Bax 蛋白水平,通过线粒体途径诱导细胞凋亡从而产生细胞毒性。冯雪等^[33]对雷公藤制剂的肾毒性进行循证评价,其导致肾毒性的发生率为 5.81%,主要表现为尿素氮、肌酐升高,肾功能异常及损害,肾功能不全,血尿,急性肾功能衰竭。任强等^[34]观察雷公藤多苷对大鼠的肾损伤情况,结果表明,雷公藤多苷通过 NF- κ B 信号转导通路诱导肾细胞凋亡是其毒性作用的可能机制之一。

综上所述,本研究表明雷公藤作用于狼疮性肾炎的主要活性成分可能为雷公藤甲素、雷公藤多苷、雷公藤红素等;这些活性成分通过作用于 TLR9、VCAM-1、BTK、SYK 等靶标以及调节 PI3K-Akt、P38MAPK、TLR/NF- κ B、Jak2-Stat3 等信号通路发挥对狼疮性肾炎的治疗作用。同时雷公藤的主要化学成分既是有效成分也是毒性成分。从中可以看出雷公藤对狼疮性肾炎的治疗作用和毒性作用都具有多成分、多靶点、多通路的特点。然而本研究未能对雷公藤对狼疮性肾炎的效毒可能机制进

行科学实验的证实,尚存在局限性,但可以为有关实验的深一步进行提供思路与方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 汤睿莹,刘 岩. 狼疮性肾炎的治疗临床研究进展 [J]. 中外医学研究, 2020, 18(16): 186-188.
- [2] 张莎莎,吴 迪,孙 硕,等. 狼疮性肾炎中西医研究和治疗进展 [J]. 中医研究, 2020, 33(1): 77-80.
- [3] 王 莹,朱可庆,朱伯成. 狼疮性肾炎治疗进展 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2020, 30(5): 429-433.
- [4] 杨丹丹. 免疫抑制剂治疗狼疮性肾炎的研究进展 [J]. 当代医药论丛, 2019, 17(20): 26-27.
- [5] 赵亚峰,边 静,李娜梅,等. 狼疮性肾炎患者中医证型与临床病理分析 [J]. 陕西中医, 2019, 40(11): 1555-1558.
- [6] 鲁 盈,严小倩. 雷公藤的毒副作用及在肾病中的合理应用 [J]. 中华肾病研究电子杂志, 2018, 7(1): 17-22.
- [7] 吕 洋. 中药雷公藤制剂治疗狼疮性肾炎有效性和安全性的 Meta 分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(86): 28-31.
- [8] 费 菲. 刘成海: 雷公藤制剂致肝损伤毒理机制系列研究初步揭晓 [J]. 中国医药科学, 2019, 9(10): 1-3.
- [9] 段贤春,黄 石,彭代银,等. 网络药理学在中药复方研究中的应用 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(3): 303-308.
- [10] 任 艳,邓燕君,马焱彬,等. 网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战 [J]. 中草药, 2020, 51(18): 4789-4797.
- [11] 刘玉甜,赵诗雨,吕邵娃. 基于分子对接的计算机虚拟筛选技术在新药发现中的应用进展 [J]. 化学工程师, 2020, 34(2): 59-63.
- [12] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [13] Chandran U, Patwardhan B. Network ethnopharmacological evaluation of the immunomodulatory activity of *Withania somnifera* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 197: 250-256.
- [14] Kuhn M, Szklarczyk D, Pletscher-Frankild S, et al. STITCH 4: integration of protein-chemical interactions with user data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(database issue): D401-D407.
- [15] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W357-W364.
- [16] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, et al. The GeneCards

- suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses [J]. *Curr Protoc Bioinformatics*, 2016, 54: 1.30.1-1.30.33.
- [17] Amberger J S, Bocchini C A, Francois S, *et al.* OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), an online catalog of human genes and genetic disorders [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43: D789-798.
- [18] 张 倩, 彭广操, 朱明军. 雷公藤的药理作用及毒性研究进展 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(15): 1753-1754.
- [19] 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(database issue): D433-D437.
- [20] 秦登优, 田 恩, 祁海峰. 雷公藤内酯通过 CCAAT/增强子结合蛋白 α 抑制狼疮样肾炎小鼠 IL-12/IL-23 的表达 [J]. 毒理学杂志, 2020, 13(1): 62-66.
- [21] 许 晨, 吴兆龙, 张志刚, 等. 雷公藤红素对狼疮鼠肾小球 I 和 IV 型胶原的影响 [J]. 中华风湿病学杂志, 2002, 6(4): 235-238.
- [22] 徐 瑞, 卢 文, 钱 浩, 等. TLR9、Mcp-1 在狼疮肾炎患者肾组织中的表达及临床意义 [J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(6): 863-868.
- [23] Gasparin A A, Pamplona Bueno de Andrade N, Hax V, *et al.* Urinary biomarkers for lupus nephritis: the role of the vascular cell adhesion molecule-1 [J]. *Lupus*, 2019, 28(3): 265-272.
- [24] Ariza Y, Murata M, Ueda Y, *et al.* Bruton's tyrosine kinase (Btk) inhibitor tirabrutinib suppresses osteoclastic bone resorption [J]. *Bone Rep*, 2019, 10: 100201.
- [25] Kitai M, Fukuda N, Ueno T, *et al.* Effects of a spleen tyrosine kinase inhibitor on progression of the lupus nephritis in mice [J]. *J Pharmacol Sci*, 2017, 134(1): 29-36.
- [26] 潘红梅, 周广军, 马金荣, 等. 狼疮肾炎患者 HMGB1 变化的临床意义及其靶向激活 TLR/NF- κ B 通路的作用研究 [J]. 临床肾脏病杂志, 2020, 20(4): 277-281.
- [27] 党文振. 青蒿琥酯对 MRL/lpr 狼疮小鼠的治疗作用及可能作用机制研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2019.
- [28] 任雪飞. PI3K/Akt 信号通路在狼疮性肾炎肾组织中的表达变化 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.
- [29] 刘志纯, 周巧玲, 李晓照, 等. 狼疮肾炎患者外周血单个核细胞 TWEAK 表达意义及其对 P38MAPK 信号通路的影响 [A]// 第 17 次全国风湿病学学术会议论文集 [C]. 杭州: 中华医学会, 中华医学会风湿病学分会, 2012: 1.
- [30] 陶 玲, 肖 芳, 朱卫丰, 等. 雷公藤减毒研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(5): 229-234.
- [31] 薛 璟, 贾晓斌, 谭晓斌, 等. 雷公藤化学成分及其毒性研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(5): 726-733.
- [32] Yao J C, Jiang Z Z, Duan W G, *et al.* Involvement of mitochondrial pathway in triptolide-induced cytotoxicity in human normal liver L-02 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(4): 592-597.
- [33] 冯 雪, 方赛男, 高雨鑫, 等. 雷公藤制剂安全性的循证评价研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 425-439.
- [34] 任 强, 岑国栋, 高永翔. 雷公藤多苷诱导大鼠肾细胞凋亡的 NF- κ B 信号转导通路机制研究 [J]. 成都中医药大学学报, 2011, 34(2): 39-44.

[责任编辑 高 源]