

基于网络药理学探讨金银花-连翘药对干预 IgA 肾病的作用机制

白雅雯, 麻春杰*

内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010110

摘要: **目的** 通过网络药理学方法筛选金银花-连翘药对中活性成分和 IgA 肾病靶点, 探讨金银花-连翘药对干预 IgA 肾病的作用机制。 **方法** 采用中药系统药理学数据库 (TCMSP) 检索金银花、连翘中活性成分及其作用靶点。通过 OMIM、NCBI、GeneCards 数据库获取 IgA 肾病相关基因靶点。利用 Venny 2.1 软件得到中药活性成分作用靶点与 IgA 肾病的交集靶点信息。利用 String 数据库和 Cytoscape 3.8.0 制作共有靶点蛋白相互作用网络图。运用 R 语言对核心作用靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。 **结果** 金银花-连翘药对作用于 IgA 肾病的主要活性成分有槲皮素、毛地黄黄酮、山柰酚、 β -胡萝卜素、 β -谷甾醇; 作用的疾病靶点有 AKT1、IL6、MAPK1、JUN、VEGFA、MAPK8、IL1B、MMP9; 主要通过对化学应激、氧化应激、脂多糖、细菌来源分子的反应等生物过程和 AGE-RAG、IL-17、TNF 信号通路发挥作用。 **结论** 金银花-连翘药对干预 IgA 肾病通过多成分、多靶点、多通路发挥作用, 通过网络药理学方法为二药的机制研究提供了数据支持。

关键词: 金银花; 连翘; IgA 肾病; 网络药理学; 槲皮素; 毛地黄黄酮

中图分类号: R287.3

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2022)02-0275-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.02.007

Mechanism of *Lonicerae Japonicae Flos* and *Forsythiae Fructus* drug pair intervention for IgA nephropathy based on network pharmacology

BAI Ya-wen, MA Chun-jie

Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China

Abstract: Objective To study the active components and mechanism of *Lonicerae Japonicae Flos* and *Forsythiae Fructus* in the treatment of IgA nephropathy based on network pharmacology. **Methods** TCMSP database was used to extract the active components and related targets of *Lonicerae Japonicae Flos* and *Forsythiae Fructus*. The disease targets were searched by OMIM, NCBI and GeneCards database. The information of the intersection targets of the active components of *Lonicerae Japonicae Flos*, *Forsythiae Fructus*, and IgA nephropathy were obtained by using Venny2.1 software. PPI network of the intersection target of *Lonicerae Japonicae Flos*, *Forsythiae Fructus*, and IgA nephropathy was draw by String and Cytoscape 3.8.0. The R language was used to perform GO enrichment analysis and KEGG pathway analysis. **Results** The study showed that the main active components include quercetin, luteolin, kaempferol, beta-carotene, and beta-sitosterol. The disease targets include AKT1, IL6, MAPK1, JUN, VEGFA, MAPK8, IL1B, and MMP9. The main biological process include cellular response to chemical stress, response to oxidative stress, response to lipopolysaccharide, and response to molecule of bacterial origin. The treating signaling pathway include AGE-RAGE signaling pathway, IL-17 signaling pathway, and TNF signaling pathway. **Conclusion** *Lonicerae Japonicae Flos* and *Forsythiae Fructus* treating IgA nephropathy are through multi-component, multi-target, and multi-signaling pathway, which provides data support for the further study of the two herbs based on network pharmacology.

Key words: *Lonicerae Japonicae Flos*; *Forsythiae Fructus*; IgA nephropathy; network pharmacology; quercetin; luteolin

免疫球蛋白 A (IgA) 肾病是常见的慢性肾小球肾炎, 是一种由免疫介导的肾小球肾炎^[1]。对于

IgA 肾病缺乏特异性治疗, 基础治疗是以肾素-血管紧张素系统阻断剂为主控制血压, 而免疫抑制剂

收稿日期: 2021-08-02

基金项目: 内蒙古自治区卫生健康科技计划项目 (202202129); 内蒙古自治区自然科学基金面上项目 (2019MS08008); 内蒙古医科大学科技百万工程项目 (YKD2018KJBW021)

作者简介: 白雅雯, 副教授, 博士研究生, 从事中药药理研究工作。E-mail: baiyawendr@163.com

*通信作者: 麻春杰, 教授, 博士研究生导师, 博士, 从事中药药的药理研究工作。E-mail: 13514819729@163.com

治疗 IgA 肾病的疗效和安全性一直存在争议。中药因其肯定的疗效、较小的不良反应在 IgA 肾病的治疗方面具有独特的优势,但因缺乏作用机制研究而影响了其临床推广应用和进一步的开发。IgA 肾病属于中医“尿血”“腰痛”“水肿”等的范畴,其病位虽然主要在肾,但与肺脏关系密切。IgA 肾病常发生于上呼吸道感染,主要是扁桃体感染之后,且反复感染会加重本病的病情^[2]。金银花和连翘常相须为用,辛凉解表、利咽解毒^[3]。二药合用在上呼吸道感染特别是扁桃体炎的疗效显著,因此常与其他中药配伍治疗 IgA 肾病,以控制诱发因素,减缓病情进展。本研究运用网络药理学方法筛选金银花-连翘药对中活性成分和 IgA 肾病靶点,探讨金银花-连翘药对治疗 IgA 肾病的作用机制,预测其信号通路,为进一步的机制研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 药物活性成分和靶点信息检索

利用中药系统药理学分析平台 TCMSP 数据库 (<https://tcmspw.com/tcmsp.php>)^[4]检索金银花、连翘的活性成分。设定口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性指数 (DL) ≥ 0.18 作为筛选条件^[5],得出二药中活性成分,并以此为基础,在 TCMSP 分析平台“Related Targets”一栏中找出其所对应的作用靶点。利用 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 查找靶点蛋白对应的基因名。

1.2 IgA 肾病相关基因的数据库检索

以“IgA nephropathy”为关键词,分别在 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>)^[6]、NCBI 基因数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[7]和 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)^[8]中进行人类靶点基因检索。

1.3 药物活性成分-疾病共有靶点筛选

将 1.1 项检索得出的中药活性成分的作用靶点与 1.2 项检索得出的 IgA 肾病靶点输入韦恩图制作软件 Venny 2.1,得出二者的共有靶点。

1.4 药物活性成分-交集靶点-疾病网络图构建

以 Cytoscape 3.8.0 软件构建药物活性成分-交集靶点-疾病网络图,网络中的节点 (node) 为药物活性成分和 IgA 肾病靶点,网络中的边 (edge) 表示药物活性成分与 IgA 肾病靶点之间相互关系。

1.5 蛋白相互作用网络 (PPI) 的构建

将 1.3 项得出的共有靶点采用 String 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>)^[9]结合 Cytoscape

软件进行共有靶点 PPI 网络的构建。运用 Cytoscape 软件 NetworkAnalyzer 功能进行网络拓扑参数分析。

1.6 基因本体 (GO) 富集分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析

将共有靶点运用“R 3.6.3”的“Cluster Profiler”程序包进行 GO 的生物过程 (BP)、分子功能 (MF)、细胞组分 (CC) 富集,并进行 KEGG 通路富集分析。

2 结果

2.1 药物活性成分和靶点信息检索结果

依据 TCMSP 网站检索结果,金银花中共 23 个活性成分,207 个靶点;连翘中共 23 个活性成分,206 个靶点。汇总删重后得到二药活性成分 42 个,作用靶点 224 个。将上述靶点蛋白通过 uniprot 数据库进行标准化转换。

2.2 IgA 肾病相关靶点检索结果

在 OMIM 数据库获得 15 个靶点基因,NCBI 数据库获得 224 个靶点基因, GeneCards 数据库获得 1 315 个靶点基因。将这 3 个数据库的基因合并删重之后得到 1 327 个疾病相关靶点基因。

2.3 药物活性成分-疾病共有靶点筛选结果

将药物活性成分靶点 224 个以及 IgA 肾病靶点 1 327 个运用 Venny2.1 进行映射,得到 103 个共有靶点,见图 1。

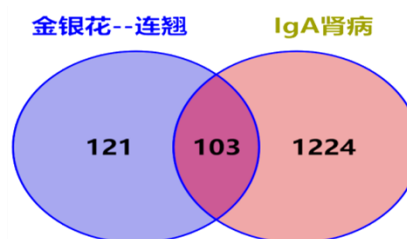


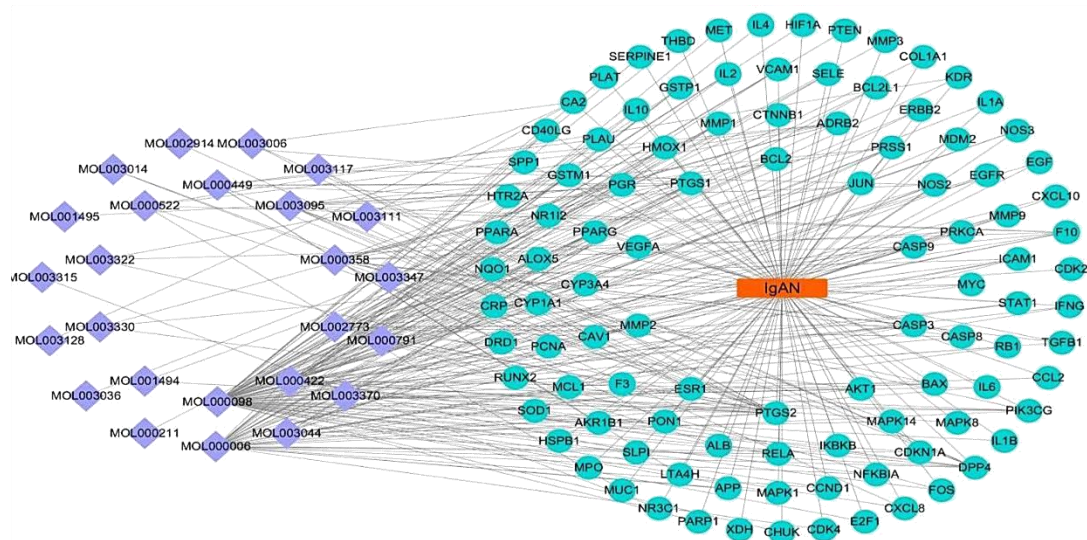
图 1 药物活性成分-疾病共有靶点图

Fig. 1 Active ingredient & disease intersection target chart

2.4 药物活性成分-交集靶点-疾病网络图构建和分析

药物活性成分-交集靶点-疾病网络中共有 129 个节点,其中来源于活性成分的有 25 个,来源于疾病靶点的有 103 个,见图 2。

将上述网络图进行拓扑分析,按度值 (degree) 排序,degree 值越高说明成分越重要。经统计 degree 值较高的活性成分有槲皮素 (quercetin)、毛地黄黄酮 (luteolin)、山柰酚 (kaempferol)、 β -胡萝卜素 (beta-carotene)、 β -谷甾醇 (beta-sitosterol),见表 1。



网络中淡紫色为中药活性成分，绿色为药物作用于 IgA 肾病的靶点，橙色为疾病

The lavender in the network is the active ingredient of traditional Chinese medicine, the green is the target of the drug acting on IgA nephropathy, and the orange is the disease

图 2 药物活性成分-交集靶点-疾病网络图

Fig. 2 Active ingredient-intersection target-disease network

表 1 核心药物活性成分

Table 1 Core active ingredients

MOL ID	分子名称	中文名	OB/%	DL	来源
MOL000098	quercetin	槲皮素	46.43	0.28	金银花、连翘
MOL000006	luteolin	毛地黄黄酮	36.16	0.25	金银花、连翘
MOL000422	kaempferol	山柰酚	41.88	0.24	金银花、连翘
MOL002773	beta-carotene	β-胡萝卜素	37.18	0.58	金银花
MOL000358	beta-sitosterol	β-谷甾醇	36.91	0.75	金银花、连翘

2.5 PPI 的构建和分析

在 String 数据库将生物种类设定为“Homo sapiens”，可信度 >0.7 ，得到 PPI 网络。该网络中有 103 个节点，898 条边，平均 degree 值为 17.4 (图 3)。NetworkAnalyzer 网络拓扑参数分析得到 PPI 网络拓扑分析核心靶点图 (图 4)。按照 degree 值筛选核心成分和靶点，节点颜色和大小根据 degree 值调整，degree 值越大，节点面积越大，颜色越红。按照 degree 值从大到小排列，前 8 位的靶点分别是蛋白激酶 B (AKT1)、白细胞介素 6 (IL6)、转录因子 (JUN)、丝裂原激活蛋白激酶 1 (MAPK1)、血管内皮生长因子 (VEGFA)、丝裂原激活蛋白激酶 8 (MAPK8)、白细胞介素 1β (IL1B)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)，提示这些靶点在 PPI 网络中发挥了关键作用。

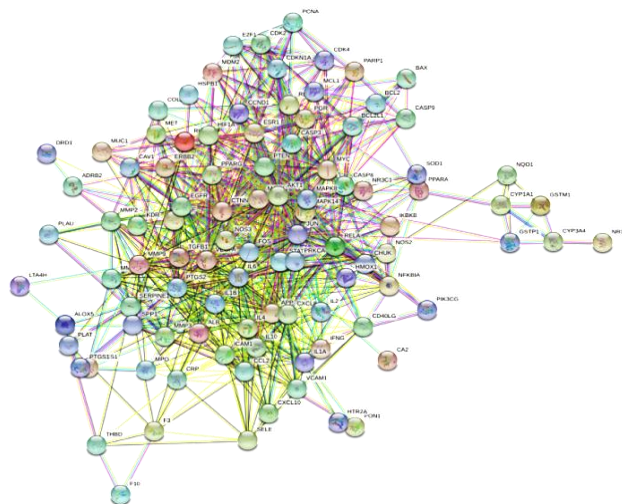


图 3 PPI 网络模型图

Fig. 3 PPI network

于 IgA 肾病的主要活性成分有槲皮素、毛地黄黄酮、山柰酚、 β -胡萝卜素、 β -谷甾醇。其中槲皮素、毛地黄黄酮、山柰酚是黄酮类化合物,具有多种生物活性,如抗氧化、抗病毒、抗炎作用^[12]; β -胡萝卜素是维生素 A 的重要来源,具有抗氧化、增强细胞间隙连接能力^[13]; β -谷甾醇是一种植物甾醇,具有抗菌、抗炎、抗氧化作用^[14]。已有研究表明,血清低糖基化 IgA1 沉积于肾小球系膜区可引起炎症反应,并诱导肾小管细胞和巨噬细胞产生促炎细胞因子,且炎症本身也会导致 IgA 肾病发生氧化应激,而氧化应激是促使 IgA 肾病进行性加重的主要因素之一^[15]。因此推测金银花-连翘药对中主要活性成分可能是通过抗炎、抗氧化发挥治疗作用。PPI 网络分析发现,AKT1、IL6、MAPK1、JUN、VEGFA、MAPK8、IL1B、MMP9 这些因子参与了 IgA 肾病发生、进展的多个过程。其中 AKT1 参与多种细胞因子的致纤维化过程,促进肾脏系膜细胞的增殖,抑制其凋亡,引起细胞外基质的分泌增加,并参与了足细胞的损伤过程^[16]。MAPK 可加重 IgA 肾病肾小管纤维化。转录因子 Jun 在肾小球和肾小管细胞中被激活,Jun 的激活参与 IgA 肾病的炎症和纤维化^[17]。IL-6 和 VEGF 能刺激肾小球系膜细胞,使系膜细胞增生,导致肾小球硬化^[18]。MMP9 是细胞外基质降解中最关键的酶,异常表达会导致足细胞损伤^[19]。通过 GO 和 KEGG 富集分析显示,金银花-连翘药对干预 IgA 肾病主要是通过抑制 AGE-RAGE、IL-17、TNF 信号通路等发挥作用。AGEs/RAGE 与 IgA 肾病系膜细胞的增殖和肥大、肾脏纤维化有关^[20]; IL-17、TNF 信号通路均与 IgA 肾病免疫炎症活动和疾病进展相关,并与蛋白尿、肾功能、尿酸呈正相关^[21]。

本研究通过网络药理学方法研究了金银花-连翘药对干预 IgA 肾病的作用机制,二药干预 IgA 肾病的活性成分有槲皮素、毛地黄黄酮、山柰酚、 β -胡萝卜素、 β -谷甾醇;作用的靶点主要是 AKT1、IL6、MAPK1、JUN、VEGFA、MAPK8、IL1B、MMP9,并通过 AGE-RAGE、IL-17、TNF 等信号通路发挥作用,为金银花-连翘药对的进一步研究提供了数据支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Oxford Classification of IgA nephropathy 2016: An

update from the IgA Nephropathy Classification Working Group [J]. *Kidney Int*, 2017, 91(5):1014-1021.

- [2] 赵洁, 孟立峰, 莫超, 等. 基于“咽肾相关”理论防治 IgA 肾病的研究进展 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(4): 1148-1152.
- [3] 丁晓彦, 林志军, 王岱. 金银花-连翘药对的成分和药理作用研究进展 [J]. 山东科学, 2019, 32(3): 36-41.
- [4] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Chem inf*, 2014, 6: 13.
- [5] 汝锦龙. 中药系统药理学数据库和分析平台的构建和应用 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [6] Amberger J S, Bocchini C A, Schiettecatte F, 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(Database issue): 789-798.
- [7] Database Resources of the National Center for Biotechnology Information [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): 8-13.
- [8] Safran M, Dalah I, Alexander J, et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator [J]. *Database (Oxford)*, 2010, 2010: baq020.
- [9] Szklarczyk D, Gable A L, Lyon D, et al. STRING v11: Protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): 607-613.
- [10] Coppo R. Treatment of IgA nephropathy: Recent advances and prospects [J]. *Nephrol Ther*, 2018, 14(Suppl 1): S13-S21.
- [11] 徐建龙. IgA 肾病中医证治规律研究及中医药干预随机对照试验文献的系统评价 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [12] Almatroodi S A, Alsahli M A, Almatroudi A, et al. Potential therapeutic targets of quercetin, a plant flavonol, and its role in the therapy of various types of cancer through the modulation of various cell signaling pathways [J]. *Molecules*, 2021, 26(5): 1315.
- [13] 吴骞, 丁榆德, 程刚. 山柰酚通过 PI3K/Akt 信号通路对口腔癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响 [J]. 中药材, 2020, 43(12): 3045-3049.
- [14] 邱模昌, 蔡灵卿, 王芳, 等. β -胡萝卜素对高糖诱导的血管内皮细胞损伤的保护作用 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2014, 54(7): 24-28.
- [15] 陈元堃, 曾奥, 罗振辉, 等. β -谷甾醇药理作用研究进展 [J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(1): 148-153.

- [16] 吴薇, 杨晶晶, 万毅刚, 等. 慢性肾脏病胰岛素抵抗的发病机制、治疗策略及中药的干预作用 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 49-55.
- [17] De Borst M H, Prakash J, Melenhorst W B W H, *et al.* Glomerular and tubular induction of the transcription factor c-Jun in human renal disease [J]. *J Pathol*, 2007, 213(2): 892-902.
- [18] 崔成姬, 邹迪, 王宏安, 等. 枸芪复肾丸对 IgA 肾病模型大鼠 IL-6 与 TNF- α 的影响研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(6): 1154-1156.
- [19] Phillips T M, Fadia M, Lea-Henry T N, *et al.* MMP2 and MMP9 associate with crescentic glomerulonephritis [J]. *Clin Kidney J*, 2017, 10(2): 215-220.
- [20] 汪四海, 方朝晖, 倪英群, 等. 丹蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾脏 TGF- β 1/Smad3 信号通路和 AGEs/RAGE 水平的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(4): 2019-2024.
- [21] 曹丽, 鄂静, 李晶, 等. IL-21、IL-17 在 IgA 肾病的表达与 TNF- α 、TGF- β 及病理分级的关系 [J]. 宁夏医学杂志, 2021, 43(3): 196-199.

【责任编辑 解学星】