

基于网络药理学芪葵颗粒治疗糖尿病肾病的物质基础及作用机制研究

浦强¹, 徐巍龙², 李楠¹, 王丽娟², 余江毅^{2*}

1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省中医院, 江苏 南京 210029

摘要: **目的** 运用网络药理学方法研究芪葵颗粒治疗糖尿病肾病(DN)的多成分、多靶点、多通路作用机制,旨在为其基础研究及临床应用提供依据。**方法** 通过多个数据库检索并筛选芪葵颗粒活性成分和其作用 DN 相关靶点,并通过 Cytoscape 软件分别构建药物、靶点、疾病靶点网络图,利用网络拓扑分析芪葵颗粒治疗 DN 关键靶点,采用 ClueGO 插件进行 GO、KEGG 基因富集分析,得到芪葵颗粒治疗 DN 的潜在作用通路。**结果** 芪葵颗粒中筛选得到 67 个活性成分,涉及 DN 作用靶点 212 个。网络拓扑分析最终筛选出 43 个关键靶点,ClueGO 富集分析关键靶点主要被富集在 IL-17 信号通路、HIF-1 信号通路、TNF 信号通路等 49 个显著相关通路,涉及神经递质代谢过程、小分子代谢过程、血压和氧化还原酶活性调节等 132 个显著相关生物过程。**结论** 芪葵颗粒有效成分可调控 DN 发病重要通路中多个靶点。

关键词: 芪葵颗粒; 糖尿病肾病; 网络药理学; 靶点; IL-17 信号通路; HIF-1 信号通路; TNF 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)23-5767-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.23.018

Network pharmacology-based study on material basis and mechanism of Qikui Granules against diabetic nephropathy

PU Qiang¹, XU Wei-long², LI Nan¹, WANG Li-juan², YU Jiang-yi²

1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China

Abstract: Objective This study was designed to explore the “multi-components, multi-targets, multi-pathways” mechanism of Qikui Granules in the treatment of diabetic nephropathy (DN) by network pharmacology, aiming to provide basis for its basic research and clinical application. **Methods** The active chemical constituents of Qikui Granules and their related targets against diabetic kidney disease were searched and screened by multiple databases. The network maps of drug-disease-targets were constructed by Cytoscape software. The key targets of Qikui Granules against DN were searched by network topology. The GO and KEGG gene enrichment analysis of the key targets for treating DN were performed by using ClueGO. **Results** The network analysis indicated that 67 active chemical components and 212 targets against DN were established from Qikui Granules. A total of 43 key targets were finally screened by network topology analysis. These targets were mainly enriched in 49 significant related pathways such as IL-17 signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, TNF signaling pathway and so on. Also, 132 significant related biological processes such as neurotransmitter metabolic processes, positive regulation of small molecule metabolic processes, regulation of blood pressure and oxidoreductase activity were related. **Conclusion** This study reveals that the active constituents of Qikui Granules could regulate multiple targets in the pathogenesis of diabetic nephropathy, which provides an important basis for further research on its mechanism of action against DN.

Key words: Qikui Granules; diabetic nephropathy; network pharmacology; target; IL-17 signaling pathway; HIF-1 signaling pathway; TNF signaling pathway

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病的严重并发症之一,尤其是 2 型糖尿病,三分之一的 2 型糖尿病患者会并发 DN,最终发展为终末期肾病(ending stage renal disease, ESRD)^[1]。DN 已经

收稿日期: 2019-03-15

基金项目: 江苏省中医药管理局重点专项(ZX2016A1); 江苏省中医院 2019 院级课题“益中”助研基金项目(Y19041); 江苏省研究生培养创新工程研究生科研和实践创新计划项目(KYCX19_1207)

作者简介: 浦强(1987—),男,在读硕士研究生,研究方向为代谢内分泌临床研究。Tel: 15862770654 E-mail: philhugh1012@163.com

*通信作者 余江毅,主任医师,教授。Tel: (025)86617141 E-mail: yujiangyi@medmail.com

是 ESRD 的主要原因^[2]。研究认为, DN 早期进行临床干预, 可以使病情逆转, 一旦进入临床期则难以阻止其进展至 ESRD, 肾功能衰竭不可避免, 也不可逆转, 只能肾脏透析维持治疗, 因此早期防治 DN 至关重要。目前临床延缓 DN 病情进展的治疗主要包括控制血糖、血压、调节脂代谢、抗氧化、抑制炎症反应等, 但疗效不理想^[3-4]。

祖国医学认为, DN 属于“水肿、虚劳、关格”等范畴, 现称消渴病肾病, 基本病机为气阴两虚、湿瘀阻络, 治法多以益气养阴、化湿通络、化痰祛瘀等^[5]。芪葵颗粒由黄芪、黄蜀葵花、制何首乌组成, 具有益气养阴、清利和络的功效, 用于 2 型糖尿病肾病早期干预。课题组前期对芪葵颗粒进行临床疗效评价和动物作用机制研究, 证实芪葵颗粒能够降低早期 DN 患者尿微量白蛋白水平, 改善倦怠乏力、腰膝酸软、面肢浮肿等症状, 延缓病情进展^[6]; 并可以一定程度抑制炎症因子表达和 p38-MAPK 信号通路的激活, 从而发挥对 DN 大鼠的肾脏保护作用等^[7]。

鉴于中药复方多成分、多靶点等原因, 目前芪葵颗粒治疗 DN 的作用机制尚未完全阐明。本研究借助网络药理学研究方法, 筛选芪葵颗粒的主要活性化学成分及作用靶点, 挖掘 DN 已知的相关靶点, 进一步根据网络拓扑分析及 ClueGO 软件富集分析芪葵颗粒治疗 DN 的作用机制, 为芪葵颗粒机制研究提供新的思路, 为临床应用提供新依据。

1 材料与方法

1.1 芪葵颗粒所含主要化学成分的收集和筛选

芪葵颗粒由黄芪、黄蜀葵花、制何首乌 3 味药组成。本研究根据芪葵颗粒中 3 味中药黄芪 *Astragali Radix*, 黄蜀葵花 *Abelmoschi Corolla*, 何首乌 *Polygoni Multiflora Radix* 在《中国药典》2015 年版的植物规范名称, 检索 TCM database@Taiwan (<http://tcm.cmu.edu.tw/>)^[8]、TCMID (<http://183.129.215.33/tcmid/>)^[9]、Batman-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)^[10] 等数据库收集黄芪、黄蜀葵花、制何首乌的主要化学成分, 另外结合中国知网、万方、Pubmed 数据库等文献对于未能入选的化学成分, 但报道其有生物活性和药理作用的也纳入候选活性化学成分, 建立药物-化学成分数据集。

1.2 化学成分潜在靶点收集

本研究采用 TCMID、BATMAN-TCM、TCMSP (traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>)^[11] 数据库检索芪葵颗粒候选化合物相

关的潜在靶点, 并使用 Uniprot 数据库中的 UniProKB 检索功能 (<https://www.uniprot.org/>), 通过输入靶蛋白名称, 并限定物种为“Homo sapiens”, 剔除非人源靶点, 将查询得到的所有蛋白名称校正为官方名称。通过检索 Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)^[12] 查询化合物的结构、生物活性等详细信息, 进而采用网络图像化软件 Cytoscape 3.7.1 构建“中药-活性成分-靶点”网络图。

1.3 DN 疾病靶点的筛选

采用 PharmGkb 数据库 (PharmGkb, <https://www.pharmgkb.org/>, 2017 年 12 月 28 日更新)^[13]、OMIM 数据库 (omim.org, 2019 年 1 月 18 日更新)^[14]、TTD 数据库 (systemsdock.unit.osit.jp/iddp/home/index, 2017 年 9 月 15 日更新)^[15]、Drugbank 数据库 (<https://www.drugbank.ca>, 版本 5.1.2, 2018 年 12 月 20 日更新)^[16]、NCBI Gene 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>, 2017 年 3 月 20 日更新)^[17]、GeneCards (<https://www.genecards.org/>, 2018 年 11 月 14 日更新)^[18] 数据库, 在数据库中通过检索关键词“diabetic nephropathy”“nephropathy, diabetic”“diabetic kidney disease”收集与 DN 相关的靶点基因, 整理后建立 DN 相关靶点数据集。

1.4 芪葵颗粒作用靶点与 DN 靶点集 Venn 分析

将芪葵颗粒主要化学成分作用靶点与 DN 靶点数据集进行 Venn 分析, 得到共同的基因集, 初步挖掘芪葵颗粒治疗 DN 的作用靶点。进而将交集靶点集导入 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>, David 6.8), 限定物种人, 将所有靶基因名称校正为其官方名称, 进而构建“中药-化学成分-靶基因-疾病”网络图, 显示中药复方化学活性成分与 DN 疾病标记物的靶向关系。

1.5 生物分子网络建立及富集分析

1.5.1 蛋白质-蛋白质互作关系 (PPI) 网络图构建与关键靶点筛选分析 将“1.4”项下得到的交集靶点在线导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>), 限定物种人, 得到蛋白与蛋白间相互作用信息, 构建 PPI 网络图, 寻找靶点和靶点间作用关系; 进而根据网络拓扑学理论筛选出关键靶点, 其在网络中信息传递效率更高, 能影响更多节点, 在网络中作用显著。通过 Cytoscape 3.7.1 软件插件 cytoNCA^[19] 对交集的网络进行拓扑分析, 分析内容包括中心性 (degree centrality, DC) 值、介度中心性 (betweenness

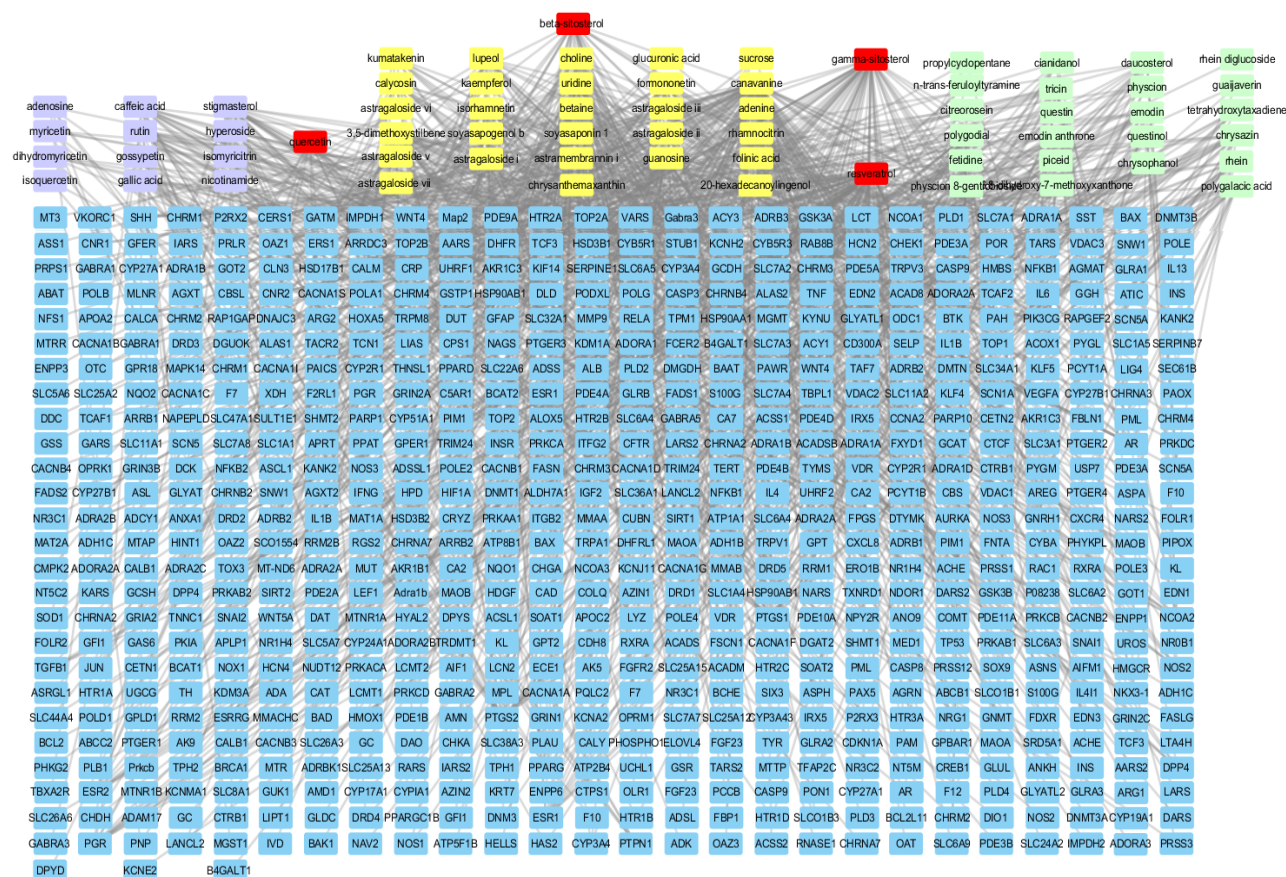


图 2 芪葵颗粒“活性成分-靶点”相互作用网络

Fig. 2 Network chart for active components-action targets of Qikui Granules

2.3 DN 靶点集的筛选

通过 PharmGkb、OMIM、TTD、Drugbank、GeneCards 和 NCBI Gene 数据库, 收集 DN 相关靶点基因, 分别收集到 107、142、18、78、2 149、489 个, 剔除重复, 共收集到 2 170 个 DN 疾病相关靶点。

2.4 芪葵颗粒潜在作用靶点与 DN 靶点集 Venn 分析

芪葵颗粒化学成分对应的 677 个作用靶点与 2 170 个 DN 疾病相关靶点经过 Venn 分析, 得到芪葵颗粒潜在作用 DN 的 213 个靶点基因。将交集靶点集导入 DAVID 数据库, 剔除非人源靶点 (MT-ND6), 共得到 212 个潜在靶点, 其中黄芪对应 170 个、黄蜀葵花对应 44 个、何首乌对应 100 个。并将靶基因名称校正为官方名称, 构建“中药-化学成分-靶基因-疾病”网络图, 结果见图 3。

2.5 生物分子网络建立及富集分析

2.5.1 PPI 网络 将“2.4”项下得到的 212 个基因检索 String 数据库, 得到蛋白与蛋白之间的互相作用信息, 构建 PPI 网络, 结果见图 4-A, 进一步采用 CytoNCA 计算网络节点的 DC、BC、CC 和 EC 值,

得到网络 DC 中位数为 15, BC 中位数为 86.801 686, CC 中位数为 0.451 193, EC 中位数为 0.033 671; 根据网络药理学筛选方法, DC 值 > 2 倍中位数并综合 BC > 86.801 686、CC > 0.451 193、EC > 0.033 671 筛选网络, 得到 43 个关键靶点 (表 1), 包括 SST、NOS2、TNF、CASP3、OPRM1、CRP、INS、CNR1、CXCL8、IL1B、TP53、ALB、EDN1、TRPV1 (ENSG00000196689)、HSP90AA1、NOS3、NOS1、CXCR4、AR、DRD2、COMT、PPARG、GPT、NR3C1、VDR、ACHE、ADRB2、CFTR、MMP9、IL6、IL4、HIF1A、CALCA、BRCA1、IFNG、ESR1、PTGS2、CREB1、ADRA2C、TH、RELA、HMOX1、NFKB1。进而得到核心靶点 PPI 网络图, 结果见图 4-B。

2.5.2 靶点 ClueGo 富集分析 采用 Cytoscape 3.7.1 软件插件 ClueGO 对芪葵颗粒 43 个关键靶点基因进行 GO、KEGG 功能注释和富集分析。GO 富集分析表明, 芪葵颗粒可能作用包括神经递质代谢过程、对尼古丁的反应、小分子代谢过程调节、血压、

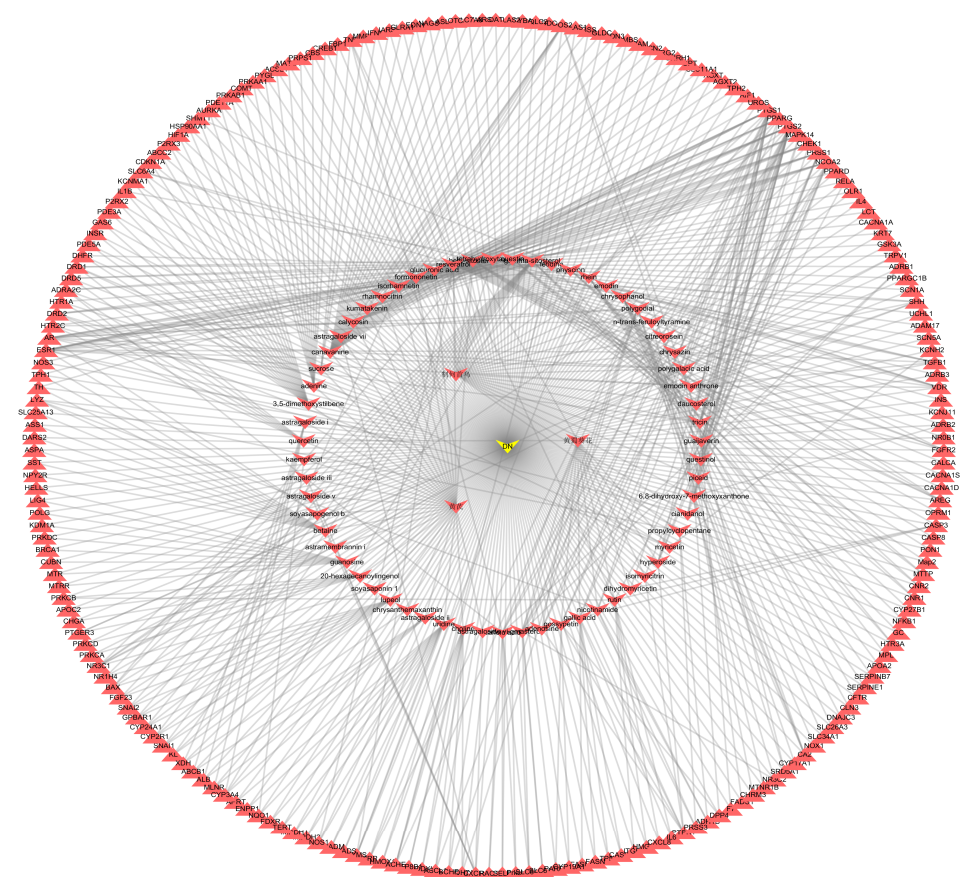


图 3 芪葵颗粒“中药-化学成分-靶基因-疾病”网络

Fig. 3 Network chart for “herbal medicine-component-target-disease” of Qikui Granules

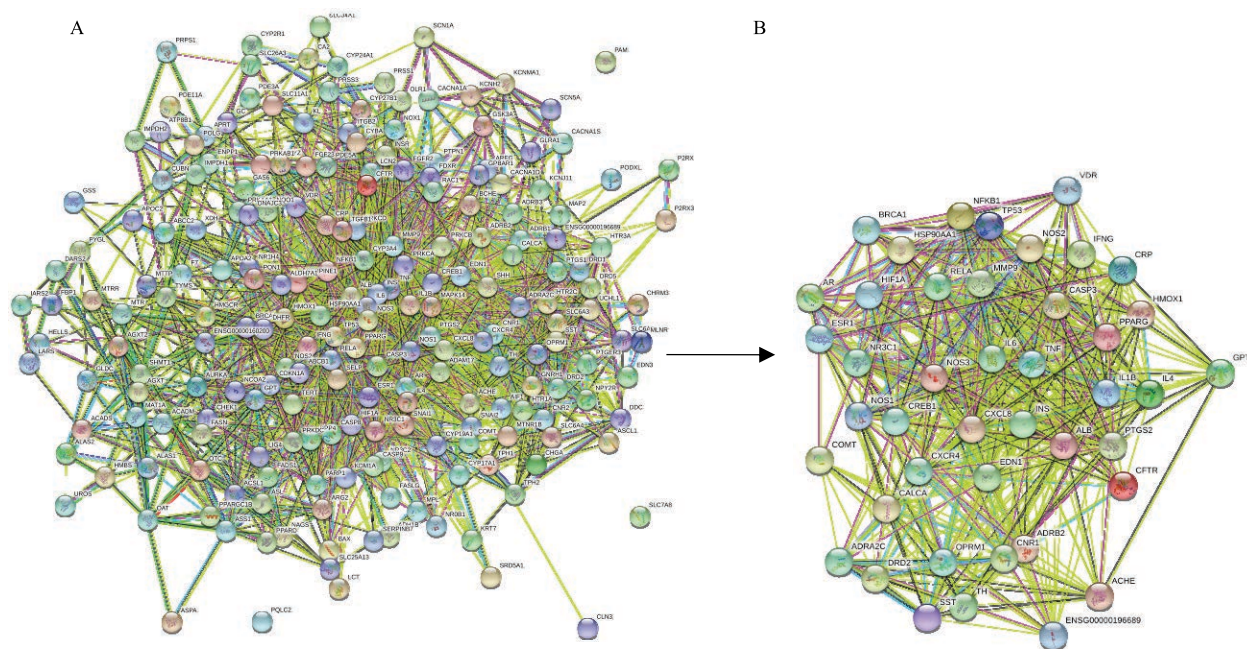


图 4 潜在靶蛋白 (A) 和关键靶蛋白 (B) PPI 网络

Fig. 4 PPI network of potential targets (A) and key targets (B)

表 1 芪葵颗粒关键靶点
Table 1 Key targets of Qikui Granules

编号	基因	蛋白	Uniport ID	BC	CC	DC	EC	归属
1	ACHE	acetylcholinesterase (cartwright blood group)	P22303	177.058 16	0.494 061 8	30	0.076 046 4	黄芪、制何首乌
2	ADRA2C	adrenoceptor alpha 2C	P18825	204.516 94	0.485 981 3	32	0.065 189 3	黄芪、黄蜀葵花、制何首乌
3	ADRB2	adrenoceptor beta 2	P07550	284.363 33	0.507 317 1	35	0.083 614 3	黄芪、制何首乌
4	ALB	albumin	P02768	4 410.232 50	0.647 975 1	101	0.213 402 9	黄芪
5	AR	androgen receptor	P10275	699.802 56	0.529 262 1	48	0.118 563 4	黄芪、制何首乌
6	BRCA1	BRCA1, DNA repair associated	P38398	465.666 67	0.506 082 7	33	0.080 264 4	黄芪
7	CALCA	calcitonin related polypeptide alpha	P06881	517.730 87	0.502 415 5	36	0.089 324 4	黄芪、制何首乌
8	CASP3	caspase 3	P42574	804.954 92	0.569 863 0	66	0.179 644 5	黄芪、黄蜀葵花、制何首乌
9	CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator	P13569	1 033.311 10	0.502 415 5	30	0.067 546 3	制何首乌
10	CNR1	cannabinoid receptor 1	P21554	307.760 66	0.509 803 9	34	0.089 774 0	制何首乌
11	COMT	catechol-O-methyltransferase	P21964	317.530 91	0.454 148 5	31	0.047 846 3	黄芪
12	CREB1	cAMP responsive element binding protein 1	P16220	1 288.340 90	0.551 724 1	59	0.151 805 6	黄芪
13	CRP	C-reactive protein	P02741	172.873 61	0.512 315 3	38	0.115 137 0	黄芪、制何首乌
14	CXCL8	C-X-C motif chemokine ligand 8	P10145	566.529 36	0.557 640 8	59	0.170 068 5	黄蜀葵花
15	CXCR4	C-X-C motif chemokine receptor 4	P61073	313.474 04	0.508 557 5	41	0.119 718 3	黄芪
16	DRD2	dopamine receptor D2	P14416	223.201 40	0.479 262 7	31	0.059 867 5	黄芪、黄蜀葵花、制何首乌
17	EDN1	endothelin 1	P05305	863.375 48	0.534 704 4	49	0.136 528 7	黄芪
18	ESR1	estrogen receptor 1	Q9SAD4	703.301 07	0.540 259 7	55	0.146 985 5	黄芪、制何首乌
19	GPT	glutamic--pyruvic transaminase	P24298	1 217.176 50	0.517 412 9	38	0.093 706 9	黄芪
20	HIF1A	hypoxia inducible factor 1 alpha subunit	Q16665	129.935 88	0.502 415 5	35	0.118 708 9	黄芪
21	HMOX1	heme oxygenase 1	P09601	735.105 58	0.527 918 8	42	0.126 340 3	黄芪
22	HSP90AA1	heat shock protein 90 alpha family class A member 1	P07900	635.394 33	0.534 704 4	48	0.127 831 5	黄芪
23	IFNG	interferon gamma	P01579	217.892 18	0.509 803 9	38	0.121 219 1	黄芪
24	IL1B	interleukin 1 beta	P01584	884.547 45	0.556 149 7	57	0.160 503 0	黄芪、制何首乌
25	IL4	interleukin 4	P05112	290.840 91	0.521 303 3	41	0.126 390 2	黄芪
26	IL6	interleukin 6	P05231	1 852.239 00	0.606 414 0	87	0.209 121 7	黄蜀葵花
27	INS	insulin	P01308	7 290.236 70	0.686 468 6	118	0.229 755 3	黄芪、制何首乌
28	MMP9	matrix metalloproteinase 9	P14780	381.791 87	0.526 582 3	52	0.150 200 1	黄芪
29	NFKB1	nuclear factor kappa B subunit 1	P19838	120.493 40	0.485 981 3	36	0.108 693 1	制何首乌
30	NOS1	nitric oxide synthase 1	P29475	722.781 19	0.522 613 1	39	0.092 869 8	黄芪、制何首乌
31	NOS2	nitric oxide synthase 2	P35228	479.575 85	0.518 703 2	36	0.107 661 2	黄芪、制何首乌
32	NOS3	nitric oxide synthase 3	P29474	1 405.202 80	0.574 585 6	63	0.157 562 1	黄芪、制何首乌
33	NR3C1	nuclear receptor subfamily 3 group C member 1	P04150	363.648 70	0.512 315 3	41	0.117 613 6	黄芪、制何首乌
34	OPRM1	opioid receptor mu 1	P35372	455.859 21	0.504 854 4	38	0.087 748 6	黄芪、黄蜀葵花、制何首乌
35	PPARG	peroxisome proliferator activated receptor gamma	P37231	1 029.597 00	0.551 724 1	59	0.146 153 7	黄芪、黄蜀葵花、制何首乌
36	PTGS2	prostaglandin-endoperoxide synthase 2	P35354	349.757 17	0.547 368 4	57	0.169 056 2	黄芪、黄蜀葵花、制何首乌
37	RELA	RELA proto-oncogene, NF-κB subunit	Q04206	200.382 94	0.512 315 3	43	0.133 121 8	黄芪、黄蜀葵花
38	SST	somatostatin	P61278	189.670 13	0.494 061 8	36	0.085 213 3	黄芪
39	TH	tyrosine hydroxylase	P07101	363.906 30	0.521 303 3	41	0.098 924 1	黄芪、制何首乌
40	TNF	tumor necrosis factor	P01375	1 062.299 60	0.576 177 3	71	0.186 742 8	黄芪、黄蜀葵花
41	TP53	tumor protein p53	P04637	2 261.693 50	0.590 909 1	74	0.176 594 4	黄蜀葵花
42	TRPV1	transient receptor potential cation channel subfamily V member 1	Q8NER1	575.318 93	0.492 891 0	31	0.081 027 0	黄芪、制何首乌
43	VDR	vitamin D (1,25-dihydroxyvitamin D3) receptor	P11473	510.609 13	0.487 119 4	31	0.076 001 2	黄芪、制何首乌

激素、细胞凋亡、氧化还原调节等 132 个生物过程 (图 5)。KEGG 功能注释富集分析提示, 芪葵颗粒可能作用包括 IL-17 信号通路、HIF-1 信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化、TNF 信号通路、AGE-RAGE 信号通路等 49 个通路。这些表明芪葵颗粒可通过调节多个生物过程及多个通路的协调发挥治疗 DN 的作用。同时, KEGG 富集显示疾病之间的调控机制存在相互联系、相互影响的关系。富

集分析表明包括阿米巴病、利什曼病、百日咳、乙肝、巨细胞病毒感染、结核、炎症性肠病等疾病也被显著富集。进一步对 KEGG 富集分析结果进行可视化处理, 结果见图 6。

3 讨论

DN 是糖尿病最常见的微血管并发症之一。临床实践发现, 中西医结合治疗 DN 临床症状改善率比单纯化学药组治疗高, 中医治疗 DN 的大法益气

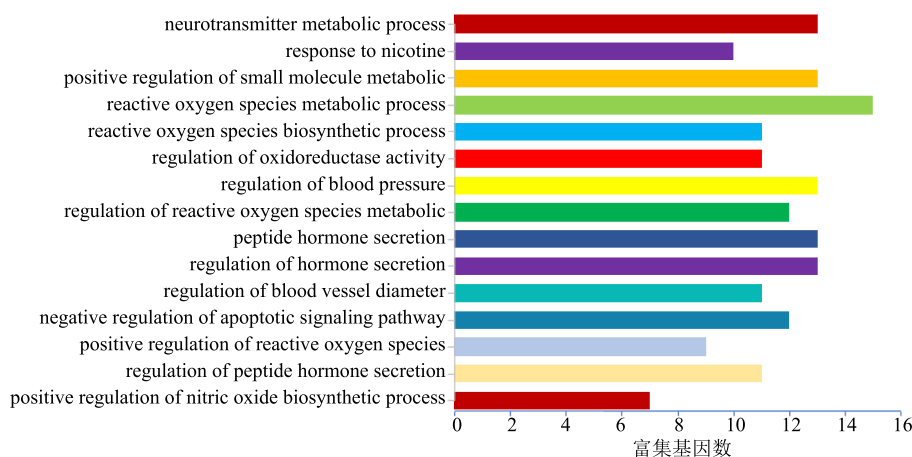


图 5 芪葵颗粒活性成分治疗 DN 潜在核心靶点的 GO 生物过程富集分析 (前 15 位)

Fig. 5 GO biological process analysis of key potential targets against DN of Qikui Granules (top 15)

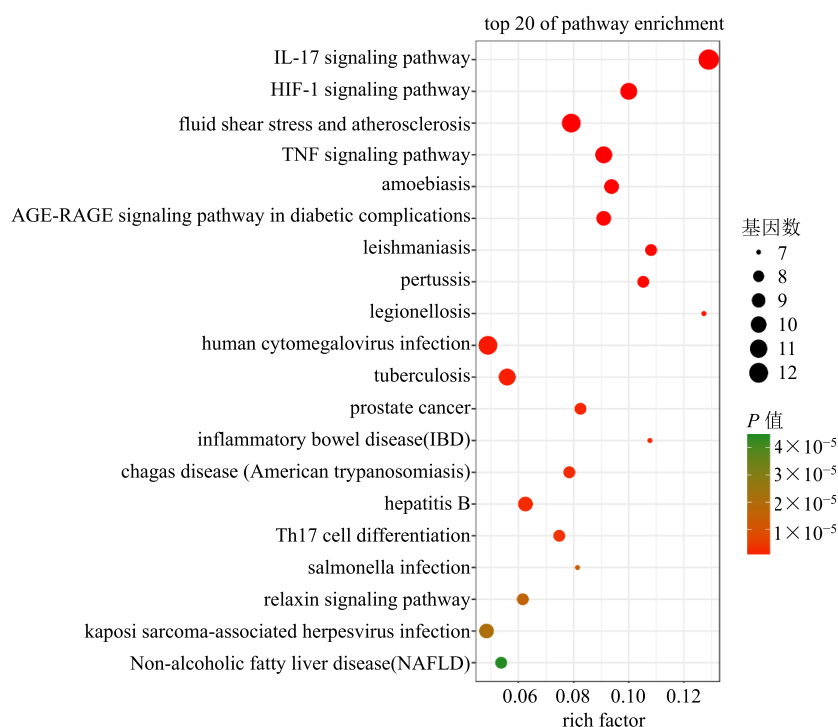


图 6 芪葵颗粒活性成分治疗 DN 潜在核心靶点的 KEGG 富集分析 (前 20)

Fig. 6 KEGG analysis of key potential targets against DN of Qikui Granules (top 20)

养阴、化湿通络^[5]。但受限于 DN 基础研究周期较长、发病机制复杂及中药复方成分复杂等,使 DN 的中药治疗研究较缓慢。网络药理学研究与中医整体观的思想具有异曲同工之处,为推动中医药对 DN 治疗的研究,本课题组结合网络药理学方法,系统全面阐释芪葵颗粒治疗 DN 的作用机制。

现代医学研究 DN 病理学特征主要为肾小球肥大,系膜增生,肾小球基底膜增厚,细胞外基质增生,肾小管肥大,肾间质纤维化等^[40],其发病机制复杂,涉及糖脂代谢异常、肾脏血流动力学改变、炎症反应、氧化应激、细胞凋亡、遗传及多通路激活等多个方面^[41]。如糖尿病环境下,糖基化终产物产生增多,激活 NF- κ B、MAPK 等信号通路,进而介导 TGF- β 信号通路激活,促进细胞外基质合成及沉积^[42]。糖尿病肾病在长期缺氧下,合并氧化应激、炎症等因素,成纤维细胞激活,加重肾脏间质的纤维化进程^[43]。

余江毅教授课题组在肾脏病专家邹云翔教授及国医大师周仲瑛、邹燕勤教授等学术思想指导下,结合多年临床治疗糖尿病肾病的经验,将黄芪、黄蜀葵花、制何首乌组合为芪葵颗粒,方中黄芪补中益气、利水消肿、止渴;黄蜀葵花消肿、利水活血;制何首乌滋补肝肾、补血益精之功效,全方补泻同施,标本兼治,共奏益气养阴,清利和络的功效,用于干预早期 2 型糖尿病肾病。目前已明确芪葵颗粒的临床效果及其可能抑制 RhoA/ROCK1 信号通路,从而抑制高糖诱导肾小管上皮细胞转分化,以及抑制炎症因子表达和 p38MAPK 信号通路的激活,从而发挥肾保护作用。但是中药复方成分复杂性,具有多靶点、多作用途径、多功能的特点。

本研究通过网络药理学方法系统地预测了芪葵颗粒治疗 DN 的潜在分子机制。分析构建了芪葵颗粒治疗 DN 的“中药-活性成分-靶点-疾病”交互网络图,数据库的检索和筛选,筛选出芪葵颗粒的 67 个活性成分和 212 个疾病共同的作用靶点,并进一步筛选出 43 个关键靶点,49 条显著通路和 132 个显著生物过程,这些结果反映了芪葵颗粒在治疗 DN 方面的可能作用机制。黄芪、黄蜀葵花等在 DN 的临床应用中普遍存在。

目前已有研究证实,黄芪及其成分具有抗氧化、调节内皮素、改善内皮功能、改善血小板功能、调节糖代谢、调节免疫、抗肾纤维化等作用。黄芪能

够预防肾脏系膜细胞早期增殖及糖基化终产物介导的细胞凋亡^[44],具有抗氧化和调节 MAPK/PPAR- γ 信号通路^[45],下调肾组织脂联素水平,降低糖尿病肾病大鼠血糖,减少尿蛋白^[46],发挥肾保护作用。黄芪药渣发酵产物具有降低糖尿病小鼠空腹血糖和提高胰岛素水平,增强免疫力的作用^[47]。黄芪中成分黄芪甲苷(Astragaloside)具有抑制高糖诱导的细胞凋亡,降低 MAPK 通路中转化生长因子(TGF- β 1)和 p38 的活性^[48],抑制内质网应激、改善肾内氧自由基的氧化损伤等^[49],改善 STZ 诱导的大鼠糖尿病肾病肾损伤^[50]。黄芪成分毛蕊异黄酮(Calycosin)可下调血小板源性生长因子-BB(PDGFBB)的表达抑制肾系膜细胞的增生而发挥肾保护作用^[51]。

黄蜀葵花具有抗炎、抗感染、清除氧自由基、纠正代谢紊乱、免疫抑制、抗肾脏纤维化,而发挥改善肾损伤的作用。黄蜀葵花能减少肾组织骨桥蛋白(OPN)和结缔组织生长因子(CTGF)^[52],调节细胞间黏附分子-1 和单核细胞趋化蛋白-1 炎症因子的表达^[53],改善肾间质纤维化;黄蜀葵花可明显升高 T 淋巴细胞亚群 T3, T4 水平,显著改善肾小球系膜增殖病变^[54]。黄蜀葵花提取物可抑制肾脏氧化应激,抑制 NLRP3 炎症小体激活和 TLR4/NF- κ B 信号,缓解 DN 肾小管上皮间充质的转变^[55],改善 DN 肾脏纤维化。

何首乌具有抗氧化、抑制细胞凋亡、降低血糖、抗动脉粥样硬化以及肾保护等作用。何首乌中有效成分通过抑制早期 DN 肾脏氧化应激,减少硝基酪氨酸生成,从而减少早期 DN 大鼠的尿 α 1-微球蛋白^[56],还能通过抑制氧化应激、炎症反应和 TGF- β 1 的基因表达^[57],降低 iNOS 蛋白表达、减少 TNF- α 、IL-6 和 NO 水平^[58],达到改善 DN 肾损伤的作用。

这些研究部分提示了本研究预测的生物过程及通路的可行性。但是芪葵颗粒对于 DN 中关键生物过程和关键通路的调控还需要进一步的深入基础及临床研究证实。

综上所述,本研究运用网络药理学方法,对芪葵颗粒治疗 DN 的复杂分子网状关系进行系统研究,体现了中药复方多成分、多靶点、多通路协同作用特点,为进一步探讨芪葵颗粒治疗 DN 作用机制提供了科学的依据,也为中药复方治疗 DN 的药效物质和作用机制提供了重要的科学依据。

参考文献

- [1] Tomino Y, Gohda T. The prevalence and management of

- diabetic nephropathy in Asia [J]. *Kidney Dis*, 2015, 1(1): 52-60.
- [2] Zhang L, Long J, Jiang W, *et al.* Trends in chronic kidney disease in China [J]. *New Engl J Med*, 2016, 375(9): 905-906.
- [3] Marquez D F, Ruiz-Hurtado G, Ruilope L M, *et al.* An update of the blockade of the renin angiotensin aldosterone system in clinical practice [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2015, 16(15): 2283-2292.
- [4] Wang J, Guo Y, Li G L. *et al.* Current status of standardization of traditional Chinese medicine in China [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2016, 2016(1): 9123103.
- [5] 高彦彬, 刘铜华, 李 平. 糖尿病肾病中医防治指南 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(4): 151-153.
- [6] 严倩华, 盛梅笑, 余江毅, 等. 芪葵颗粒对早期糖尿病肾病患者微量白蛋白尿及病情进展的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2018, 38(4): 430-434.
- [7] 邵晓丽, 余江毅, 倪卫惠, 芪葵颗粒对 STZ 诱导糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用及机制研究 [J]. 中药材, 2017, 10(40): 2437-2440.
- [8] Chen C Y. TCM Database@Taiwan: The world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening in silico [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e15939.
- [9] Xue R, Fang Z, Zhang M, *et al.* TCMID: Traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D1089-D1095.
- [10] Liu Z, Du J, Yan X, *et al.* TCMAalyzer: A chemo- and bioinformatics web service for analyzing traditional Chinese medicine [J]. *J Chem Inf Model*, 2018, 58(3): 550-555.
- [11] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, doi: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [12] Ihlenfeldt W. A virtual file system for the PubChem chemical structure and bioassay database [J]. *Chem Centr J*, 2008, doi: org/10.1186/1752-153X-2-S1-P26.
- [13] Caudle K E, Gammal R S, Whirl-Carrillo M, *et al.* Evidence and resources to implement pharmacogenetic knowledge for precision medicine [J]. *Am J Health Syst Pharm*, 2016, 73(23): 1977-1985.
- [14] Amberger J S, Bocchini C A, Scott A F, *et al.* OMIM.org: Leveraging knowledge across phenotype-gene relationships [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(1): 1038-1043.
- [15] Li Y H, Yu C Y, Li X X, *et al.* Therapeutic target database update 2018: Enriched resource for facilitating bench-to-clinic research of targeted therapeutics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(1): D1121-D1127.
- [16] Wang S, Wang H, Lu Y. Tianfoshen oral liquid: A CFDA approved clinical traditional Chinese medicine, normalizes major cellular pathways disordered during colorectal carcinogenesis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(9): 14549-14569.
- [17] Brown G R, Hem V, Katz K S, *et al.* Gene: A gene-centered information resource at NCBI [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(Database issue): 36-42.
- [18] Rappaport N, Fishilevich S, Nudel R, *et al.* Rational confederation of genes and diseases: NGS interpretation via GeneCards, MalaCards and VarElect [J]. *Biomed Eng Online*, 2017, doi: 10.1186/s12938-017-0359-2.
- [19] Mallik MK. An attempt to understand glioma stem cell biology through centrality analysis of a protein interaction network [J]. *J Theor Biol*, 2018, 438: 78-91.
- [20] 王 旭, 余苏云, 沈培亮, 等. 清气凉营颗粒抗流感病毒药效学研究和分子机制分析 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(5): 719-728.
- [21] Mlecnik B, Galon J, Bindea G. Comprehensive functional analysis of large lists of genes and proteins [J]. *J Proteomics*, 2018, 171: 2-10.
- [22] 唐海涛, 刘汉清, 王 进, 等. 黄葵胶囊中 5 种黄酮类成分的含量测定及其特征图谱研究 [J]. 中药材, 2013, 36(1): 132-136.
- [23] Panda S, Jafri M, Kar A, *et al.* Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma* [J]. *Fitoterapia*, 2009, 80(2): 123-126.
- [24] Pandith H, Zhang X, Thongpraditchote S, *et al.* Effect of Siam weed extract and its bioactive component scutellarein tetramethyl ether on anti-inflammatory activity through NF-kappaB pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 147(2): 434-441.
- [25] Sookwong P, Mahatheeranont S. Some strategies for utilization of rice bran functional lipids and phytochemicals [J]. *J Oleo Sci*, 2018, 67(6): 669-678.
- [26] Xiong Y L. Inhibition of hazardous compound formation in muscle foods by antioxidative phytochemicals [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1398(1): 37-46.
- [27] Ambavade S D, Misar A V, Ambavade P D. Pharmacological, nutritional, and analytical aspects of β -sitosterol: A review [J]. *Orient Pharm Exper Med*, 2014, 14(3): 193-211.
- [28] Choi J N, Choi Y H, Lee J M, *et al.* Anti-inflammatory effects of β -sitosterol- β -D-glucoside from *trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) in lipopolysaccharide-stimulated

- RAW 264. 7 murine macrophages [J]. *Nat Product Res*, 2012, 26(24): 2340-2343.
- [29] Tang Y, Li Y, Yu H, *et al.* Quercetin prevents ethanol-induced iron overload by regulating hepcidin through the BMP6/SMAD4 signaling pathway [J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(6): 675-682.
- [30] Yu D, Ye T, Xiang Y, *et al.* Quercetin inhibits epithelial-mesenchymal transition, decreases invasiveness and metastasis, and reverses IL-6 induced epithelial-mesenchymal transition, expression of MMP by inhibiting STAT3 signaling in pancreatic cancer cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10(9): 4719-4729.
- [31] Liu Y, Tang Z G, Yang J Q, *et al.* Low concentration of quercetin antagonizes the invasion and angiogenesis of human glioblastoma U251 cells [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10(8): 4023-4028.
- [32] Wu L, Zhang Q, Mo W, *et al.* Quercetin prevents hepatic fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and reducing autophagy via the TGF- β 1/Smads and PI3K/Akt pathways [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-09673-5.
- [33] Caglayan S S, Karaman M, Cilaker M S, *et al.* Effects of quercetin treatment on epithelium-derived cytokines and model [J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2016, 15(6): 487-497.
- [34] Veith C, Drent M, Bast A, *et al.* The disturbed redox-balance in pulmonary fibrosis is modulated by the plant flavonoid quercetin [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017(336): 40-48.
- [35] Seidman M D, Tang W, Bai VU, *et al.* Resveratrol decreases noise-induced cyclooxygenase-2 expression in the rat cochlea [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2013, 148(5): 827-833.
- [36] Xin Y B, Li J J, Zhang HJ, *et al.* Synthesis and characterisation of (Z)-styrylbenzene derivatives as potential selective anticancer agents [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2018, 33(1): 1554-1564.
- [37] Ai X, Mao F, Shen S, *et al.* Bexarotene inhibits the viability of non-small cell lung cancer cells via slc10a2/PPAR γ /PTEN/mTOR signaling pathway [J]. *BMC Cancer*, 2018, doi: 10.1186/s12885-018-4224-x.
- [38] Wang N, Zhang F, Yang L, *et al.* Resveratrol protects against L-arginine-induced acute necrotizing pancreatitis in mice by enhancing SIRT1-mediated deacetylation of p53 and heat shock factor 1 [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(2): 427-437.
- [39] Kosuru R, Cai Y, Kandula V, *et al.* AMPK Contributes to cardioprotective effects of pterostilbene against myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats by suppressing cardiac oxidative stress and apoptosis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1381-1397.
- [40] Kanwar Y S, Sun L, Xie P, *et al.* A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy [J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6(2): 395-423.
- [41] Magee C, Grieve D J, Watson C J, *et al.* Diabetic nephropathy: A tangled web to unweave [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2017, 31(5/6): 579-592.
- [42] Vallon V, Komers R. Pathophysiology of the diabetic kidney [J]. *Compr Physiol*, 2011, 1(3): 1175-1232.
- [43] Hallow K M, Gebremichael Y, Helmlinger G, *et al.* Primary proximal tubule hyperreabsorption and impaired tubular transport counterregulation determine glomerular hyperfiltration in diabetes: A modeling analysis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 312(5): F819-F835.
- [44] Chen H Y, Pan H C, Chen Y C, *et al.* Traditional Chinese medicine use is associated with lower end-stage renal disease and mortality rates among patients with diabetic nephropathy: A population-based cohort study [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 81.
- [45] Han H, Cao A, Wang L, *et al.* Huangqi decoction ameliorates streptozotocin-induced rat diabetic nephropathy through antioxidant and regulation of the TGF- β /MAPK/PPAR- γ signaling [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(5): 1934-1944.
- [46] 傅天啸, 黄益麒, 马红珍. 黄芪注射剂对糖尿病肾病大鼠肾脏脂联素表达的实验研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017, 18(2): 106-109.
- [47] 刘必旺, 许凯霞, 郭羽, 等. 黄芪药渣发酵产物富硒酵母对免疫低下糖尿病大鼠的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(6): 136-139.
- [48] Wang Q, Shao X, Xu W, *et al.* Astragalosides IV inhibits high glucose-induced cell apoptosis through HGF activation in cultured human tubular epithelial cells [J]. *Ren Fail*, 2014, 36(3): 400-406.
- [49] Dugbartey G J. Diabetic nephropathy: A potential savior with “rotten-egg” smell [J]. *Pharmacol Rep*, 2017, 69(2): 331-339.
- [50] Wang Y, Lin C, Ren Q, *et al.* Astragaloside effect on TGF- β 1, SMAD2/3, and α -SMA expression in the kidney tissues of diabetic KKAY mice [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6828-6834.
- [51] 胡营杰, 陈沙沙, 王广洋, 等. 黄芪有效组分对大鼠肾小球系膜细胞血小板源性生长因子-BB 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7): 2797-2799.
- [52] 冯媛, 刘敏, 张苗, 等. 黄蜀葵花总黄酮对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的影响 [J]. 中国中西医

- 结合肾病杂志, 2010, 11(11): 1006-1008.
- [53] 徐延平, 宋 剑, 李彦华, 等. 黄葵胶囊对 5/6 肾切除大鼠肾间质纤维化中炎性因子表达的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2012, 13(6): 533-534.
- [54] 徐柏颐. 黄蜀葵花醇提取物治疗家兔系膜增殖性肾炎的实验研究 [J]. 江苏中医, 1996, 17(3): 42-44.
- [55] Yaribeygi H, Katsiki N, Butler A E, *et al.* Effects of antidiabetic drugs on NLRP3 inflammasome activity, with a focus on diabetic kidneys [J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24(1): 256-262.
- [56] 苑天彤, 刘晓民. 何首乌提取物二苯乙烯苷对糖尿病肾小管损伤保护作用的实验研究 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2016, 17(2): 114-118.
- [57] Li C, Cai F, Yang Y, *et al.* Tetrahydroxystilbene glucoside ameliorates diabetic nephropathy in rats: Involvement of SIRT1 and TGF- β 1 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 649(1/3): 382-389.
- [58] Huang C, Wang Y, Wang J, *et al.* TSG (2,3,4',5-tetrahydroxystilbene 2-O- β -D-glucoside) suppresses induction of pro-inflammatory factors by attenuating the binding activity of nuclear factor- κ B in microglia [J]. *J Neuroinflam*, 2013, 10(129): 896.