

清肝滋肾方对肥胖相关性高血压代谢紊乱的干预作用及其网络药理机制

江宇宁, 张淑洁, 何云, 张思奇, 梁君雅, 徐洁, 蒋卫民*
(南京中医药大学附属医院, 南京 210000)

[摘要] 目的:观察清肝滋肾方对肥胖相关性高血压病(OBH)患者代谢紊乱的干预作用,并基于网络药理学分析清肝滋肾方的潜在的药理机制。方法:选取2018年9月至2020年1月在江苏省中医院门诊或病房符合标准的OBH患者85例,随机分为观察组45例,对照组40例,所有患者均进行为期4周的西药导入期治疗,之后观察组在西药基础上联用清肝滋肾方。两组均干预6个月,并检测其干预前后的甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS)、腰围(W)、臀围(H),并计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、体质量指数(BMI)和腰臀比(WHR)。将清肝滋肾方调控网络可视化,构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,并获得网络核心靶点,进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析。结果:干预6个月后,与对照组比较,观察组W、H、WHR、FINS和HOMA-IR等相关代谢指标明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。网络药理分析得出清肝滋肾方治疗OBH的主要成分为毛地黄黄酮、槲皮素和小檗碱等,关键靶点为淀粉样前体蛋白(APP)、血管内皮生长因子A(VEGFA)和雌激素受体 α (ESR1)等,关键的生物学通路为晚期糖基化终产物(AGE)/晚期糖基化终产物受体(RAGE)信号通路。结论:清肝滋肾方一定程度改善了OBH患者的代谢紊乱,网络药理学初步揭示了清肝滋肾方多成分、多靶点、多途径治疗OBH的机制,为后续的研究提供了新的思路。

[关键词] 清肝滋肾方; 肥胖相关性高血压; 代谢紊乱; 网络药理学; 临床疗效

[中图分类号] R242; R285.5; R2-031; R544.1; R723.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)11-0148-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221195 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220318.1839.016.html>

[网络出版日期] 2022-03-21 15:04

Effect of Qinggan Zishen Prescription on Metabolic Disorder in Obesity-related Hypertension and Its Mechanism Based on Network Pharmacology

JIANG Yu-ning, ZHANG Shu-jie, HE Yun, ZHANG Si-qi, LIANG Jun-ya, XU Jie, JIANG Wei-min*
(Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Qinggan Zishen prescription on metabolic disorders in obesity-related hypertension (OBH) patients and analyze the potential pharmacological mechanism based on network pharmacology. **Method:** A total of 85 eligible OBH patients who were treated in the outpatient or wards of Jiangsu Province Hospital of Chinese medicine from September 2018 to January 2020 were selected and randomized into the observation group (45 cases) and control group (40 cases). All patients were treated with western medicine during a four-week introduction period, and then the observation group was treated with Qinggan Zishen prescription on the basis of western medicine. The study lasted 6 months, and indicators, such

[收稿日期] 2021-10-29

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2018YFC1704403);江苏省科技重点研发项目(BE2017775)

[第一作者] 江宇宁,在读硕士,从事中医内科学心血管疾病研究, E-mail: Jiang_yuning@outlook.com

[通信作者] * 蒋卫民, 博士, 主任医师、教授、博士生导师, 从事中医内科学心血管疾病研究, Tel: 025-57031670, E-mail: jwm0410@njucm.edu.cn

as triglycerides (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), glycosylated hemoglobin (HbA1c), fasting blood glucose (FBG), fasting insulin (FINS), waist circumference (W), hip circumference (H) were detected and homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR), body mass index (BMI), waist-hip ratio (WHR) were calculated before and after intervention. At the same time, the regulation network of the Qinggan Zishen prescription was visualized and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed. The core targets of the network were obtained for Gene Ontology (GO) term enrichment and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. **Result:** After intervention for 6 months, the levels of W, H, WHR, FINS, and HOMA-IR in the observation group were reduced as compared with those in the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). According to network pharmacology, the main components of Qinggan Zishen prescription in treating OBH were luteolin, quercetin, and berberine and the key targets were amyloid precursor protein (APP), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), and estrogen receptor 1 (ESR1). Moreover, the key biological pathway was advanced glycation end product (AGE)/advanced glycation end product receptor (RAGE) signaling pathway. **Conclusion:** Qinggan Zishen prescription can improve the metabolic disorder of OBH patients through multiple components, multiple targets, and multiple pathways, which provides new mindset for follow-up studies.

[Keywords] Qinggan Zishen prescription; obesity-related hypertension; metabolic disorders; network pharmacology; clinical efficacy

随着经济的发展和人民生活水平的提高,人们的饮食习惯已发生快速改变,全球范围内肥胖和高血压的患病率均呈显著上升趋势,两者常合并存在,称为肥胖相关性高血压(OBH)^[1]。OBH也是代谢综合征的一个特殊表现类型,常表现为腹型肥胖、高血压、胰岛素抵抗和血脂异常等,多由不健康的生活方式和代谢因素引起,如过量的糖和脂肪均能诱发胰岛素抵抗,进一步促进了动脉粥样硬化的发展,增加心血管疾病的风险^[2-4]。目前各国高血压指南对OBH的治疗仍缺乏针对性强的策略推荐,其干预手段主要为降低血压及控制肥胖与相关代谢紊乱。广泛应用于临床的利尿剂、 β -受体阻滞剂对代谢的不良影响已引起重视,钙离子拮抗剂尽管对代谢呈中性作用,但亦无减重效应,血管紧张素转换酶抑制剂和血管紧张素II受体拮抗剂虽有部分改善代谢紊乱的证据,但尚缺乏长期预后支持。此外,过去多数减肥药物因有不同程度的神经及心血管系统不良反应,临床使用受限^[5]。虽然近年来颇受关注的一些可减轻体质量的降糖药物,如二甲双胍及新型降糖药物钠-葡萄糖共转运蛋白2抑制剂、肠促胰素等显示出改善代谢紊乱及轻度降低血压的良好前景,但仍需证据积累,尚未被指南推荐^[6]。

而中医药已运用于临床数千年,其强调整体观点和多靶点作用的优势为改善OBH代谢紊乱提供了积极的干预策略,既往部分研究分别从调节血

压、血糖及降血脂等不同方面探讨了中医药的作用特点,但尚缺乏明确以OBH作为目标人群的相关研究。本课题组长期关注OBH的中医证候特点,提出了清肝滋肾的治疗原则^[7],创制的清肝滋肾方由鬼针草、鬼箭羽、黄连、酒萸肉、女贞子、玄参等组成,是江苏省中医院临床应用近30年的特色制剂,早期的临床研究已初步显示了其改善高血压代谢紊乱的作用特点^[8],近年发表的基础研究更进一步证实了其通过上调沉默信息调节因子1(SIRT1)改善脂肪组织微环境,减少脂质沉积及协同降压和减重作用^[9-10],但针对OBH的临床疗效和作用机制尚未确切阐明。

因此,为进一步明确清肝滋肾方对OBH患者代谢紊乱的干预作用,课题组开展了本临床研究,并借助中药复方网络药理学分析技术,分析清肝滋肾方的有效活性成分及作用靶点,探究其治疗OBH的潜在作用机制,为后续研究提供新的思路。

1 临床资料

1.1 一般资料 本研究纳入于2018年9月至2020年1月在江苏省中医院门诊或病房符合纳排标准的就诊患者,随机分为观察组45例,对照组40例。本研究方案在中国临床试验注册中心(www.medresman.org)完成注册(注册号ChiCTR1800018074),并获得南京中医药大学附属医院伦理委员会批准(批件号2018NL-081-02)。

1.2 诊断标准 西医诊断标准:参照《肥胖相关性高血压管理的中国专家共识》^[11]和《中国高血压防治指南(2018年修订版)》^[12],血压 $\geq 140/90$ mmHg (1 mmHg ≈ 0.133 kPa),体质量指数(BMI) ≥ 24 kg \cdot m⁻²和(或)腰围(W) ≥ 90 (男)/85(女) cm。

中医诊断标准:高血压肝火亢盛证或阴虚阳亢证辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则》^[13]。

1.3 纳排标准 纳入标准:①符合OBH西医诊断标准;②年龄20~70岁;③符合中医肝火亢盛证或阴虚阳亢证;④自愿参加并签署知情同意书。

排除标准:①继发性高血压;②对试验中基础西药治疗药物有明确禁忌证的患者;③有严重威胁生命的疾病,如急性心肌梗死、脑卒中,心功能不全IV级的患者;④备孕、妊娠期和哺乳期妇女;⑤有精神疾病病史或肢体残疾的患者;⑥目前参加其他药物临床试验的患者。

2 方法

2.1 治疗方法 两组患者均进行降压的基础治疗,首先服用苯磺酸氨氯地平(辉瑞制药有限公司,国药准字H10950224,批号分别为R39683、R97449、R97441、S15584、T39142、T28904、W48413、X59573),每日1次,每次5 mg,必要时联合应用缬沙坦胶囊(北京诺华制药有限公司,国药准字H20040216,批号分别为X2089、X2064、X2429、X2450、X2438、X2450、X2453、X2460),每日1次,每次80 mg,根据血压情况,调整2种药物的使用剂量,控制血压达标($<140/90$ mmHg),并维持至试验结束。在此基础上观察组联用清肝滋肾方(鬼针草30 g、鬼箭羽15 g、黄连3 g、酒萸肉12 g、女贞子12 g、玄参15 g),每日1剂,两组均干预6个月。江苏省中医院药学部刘志辉主任药师对中药的植物饮片进行了形态学鉴定,符合2015年版《中华人民共和国药典》相关规定,中药由江苏省中医院药学部使用YZN-50型东华原真空浓缩煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司)浓煎至25 mL。

2.2 观察指标及方法 受检者空腹8 h后,肘静脉抽血8 mL,1 000 \times g,4 $^{\circ}$ C离心10 min分离血清,运用AU5800型全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司)检测干预前后的甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FINS),计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=FBG (mmol \cdot L⁻¹) \times FINS (mU \cdot L⁻¹)/22.5;人体测量学指标:身高、体质量、腰围(W)和臀

围(H)等,计算BMI、腰臀比(WHR)。

2.3 统计学处理 使用SPSS 26软件进行统计处理,不符合正态分布的资料需转换成以10为底的对数,资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,参数资料用 t 检验,非参数资料用Wilcoxon秩和检验,组间比较采用 t 检验,组内比较采用配对 t 检验, $\alpha=0.05$,若 $P<0.05$,则认为差异具有统计学意义,若 $P<0.01$,则认为差异具有显著统计学意义。

2.4 清肝滋肾方中有效活成分及其靶点信息的收集 通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)获取清肝滋肾方的化学组成成分,获取生物利用度 $>30\%$ 且类药性 >0.18 的有效活性成分及其作用的蛋白质靶点。利用UniProt蛋白质数据库对蛋白质靶点和基因进行标准化命名。

2.5 OBH靶点预测 以“obesity-related hypertension”为关键词在GeneCards数据库、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)和PharmGkb数据库中收集OBH相关的靶点,利用R语言查重合并。

2.6 清肝滋肾方活性成分-OBH靶点调控网络 利用R语言绘制清肝滋肾方和OBH的交集靶点韦恩图,在Cytoscape 3.8.0上构建清肝滋肾方“有效成分-交集靶点”网络,实现中药复方调控网络可视化,用Network Analyzer工具分析网络特征。

2.7 清肝滋肾方成分-OBH靶点蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 在STRING 11.0构建中药成分靶标-OBH靶点的PPI网络,置信度为0.9,并进行可视化分析,根据中介中心性(Betweenness)、接近中心性(Closeness)、度中心性(Degree)、特征向量(Eigenvector)、本地平均连接性(LAC)、网络中心性(Network)等参数来评价节点的重要性。

2.8 清肝滋肾方成分-OBH的基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析 利用R软件筛选出的关键靶点将symbol转化为基因ID,借助Bioconductor和KEGG pathway数据库进行GO和KEGG的富集分析。设置 P 值 <0.05 和 Q 值 <0.05 ,筛选具有显著差异的生物过程和可靠的靶点通路。

3 结果

3.1 研究病例一般情况比较 观察组男39例,女6例,年龄为(44.36 \pm 1.59)岁,病程为(50.51 \pm 7.33)个月。对照组男28例,女12例,年龄为(44.75 \pm 1.32)岁,病程为(41.65 \pm 6.50)个月。两组患者一般资料差异无统计学意义(性别经 χ^2 检验,年龄、病程经Wilcoxon秩和检验,差异均无统计学意义)。

3.2 两组患者治疗前后代谢性指标比较 干预前,与对照组比较,观察组患者FBG、TC和LDL-C水平明显高于对照组($P<0.05$),干预6个月后,两组患者FBG、TC和LDL水平差异无统计学意义。其他指标干预前两组差异无统计学意义,资料具有可比

性。干预6个月后,与本组治疗前比较,观察组患者W、H、WHR和HOMA-IR显著降低($P<0.01$),FINS明显降低($P<0.05$);与对照组治疗后比较,观察组FINS和HOMA-IR明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 两组患者治疗前后代谢性指标比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of metabolic indicators before and after intervention between two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	BMI/kg·m ⁻²	W/cm	H/cm	WHR	FBG/mmol·L ⁻¹	FINS/mU·L ⁻¹
观察组	45	干预前	28.20±3.02	97.69±7.84	103.31±5.91	0.95±0.05	5.51±0.66 ¹⁾	0.99±0.25
		干预后	27.84±3.24	93.60±8.92 ³⁾	101.38±6.62 ³⁾	0.92±0.06 ³⁾	5.39±0.50	0.93±0.24 ^{2,4)}
对照组	40	干预前	27.94±3.02	94.90±8.42	102.70±6.08	0.92±0.05	5.12±0.44	0.96±0.20
		干预后	27.94±2.95	93.35±7.64	102.30±6.13	0.91±0.05	5.23±0.42	0.99±0.19

组别	例数	时间	HOMA-IR	HbA1c/%	TG/mmol·L ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	HDL-C/mmol·L ⁻¹	LDL-C/mmol·L ⁻¹
观察组	45	干预前	0.38±0.27	5.72±0.32	0.28±0.22	4.90±0.77 ¹⁾	0.13±0.10	3.58±0.68 ¹⁾
		干预后	0.31±0.24 ^{3,4)}	5.71±0.41	0.27±0.22	4.99±0.87	0.12±0.10	3.56±0.73
对照组	40	干预前	0.32±0.21	5.59±0.33	0.23±0.21	4.49±0.70	0.13±0.07	3.18±0.61
		干预后	0.36±0.20	5.54±0.30	0.23±0.22	4.63±0.85	0.13±0.09	3.32±0.74

注: TG、FINS和HOMA-IR分析时需转换成以10为底的对数;基线资料与对照组比较¹⁾ $P<0.05$;与本组治疗前比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$;与对照组治疗后比较⁴⁾ $P<0.05$

3.3 清肝滋肾方有效活性成分、作用靶点及疾病靶点预测 检索清肝滋肾方得70种有效活性成分,其中鬼箭羽8种,鬼针草6种,黄连14种,女贞子13种,山茱萸20种,玄参9种,作用靶点分别为15、602、596、1 026、1 843和499个,去除重复值后,清肝滋肾方有202个靶点,OBH有1 245个靶点。

中位数的节点有15个。见表2。将中药清肝滋肾方有效成分和关键靶点进行整合后,获得中药复方治疗OBH的核心成分17个,包括毛地黄黄酮、槲皮素和小檗碱等。见表3。

3.4 清肝滋肾方有效成分-OBH靶点的网络调控 清肝滋肾方和OBH的交集靶点共有78个,见图1。对“清肝滋肾方的活性成分-交集靶点”网络进行可视化,共获得113个节点与234条关系。清肝滋肾方成分-交集靶点网络见增强出版内容。

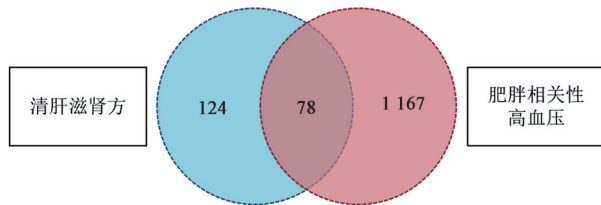


图1 清肝滋肾方与OBH交集靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of intersection target of Qinggan Zishen prescription and OBH

3.5 清肝滋肾方活性成分-OBH靶点的PPI网络分析及关键靶点的筛选 PPI网络图包括节点78个,边188条。见图2。筛选得到Betweenness、Closeness、Degree、Eigenvector、LAC和Network的中位数分别是27.53、0.37、5、0.09、1.71和2.6,均大于上述参数

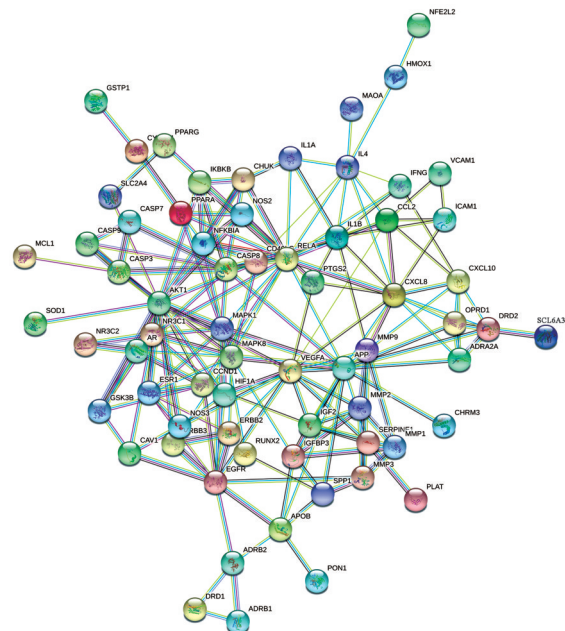


图2 清肝滋肾方治疗OBH潜在靶点间的PPI网络

Fig. 2 PPI network of potential targets of Qinggan Zishen prescription in treatment of OBH

3.6 清肝滋肾方GO富集分析 GO富集分析共获得1 419个条目,包括生物学过程(BP)、细胞组成

表 2 清肝滋肾方治疗 OBH 核心靶点基本信息

Table 2 Basic information on core targets of Qinggan Zishen prescription in treatment of OBH

名称	Betweenness	Closeness	Degree	Eigenvector	LAC	Network
淀粉样前体蛋白(APP)	930.894	0.500	16	0.275	3.125	8.012
胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP)3	89.329	0.391	7	0.101	2.286	3.133
白细胞介素(IL)-4	401.706	0.398	9	0.150	2.444	3.762
血管内皮生长因子 A(VEGFA)	522.407	0.468	13	0.216	2.154	4.743
糖皮质激素受体(NR3C1)	122.562	0.405	8	0.159	2.250	3.664
低氧诱导因子 1 α (HIF1A)	38.187	0.415	6	0.132	2.333	2.900
丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)1	425.016	0.482	12	0.254	2.833	4.398
MAPK8	292.895	0.458	11	0.214	2.182	3.517
雌激素受体 α (ESR1)	50.918	0.400	8	0.160	2.500	3.226
胱天蛋白酶(CASP)8	304.195	0.449	10	0.193	2.000	4.078
CC 趋化因子配体(CCL)2	189.505	0.420	8	0.159	2.750	4.595
核转录因子- κ B p65(RELA)	907.056	0.508	19	0.346	3.474	10.449
胰岛素样生长因子(IGF)2	69.553	0.391	7	0.110	2.286	3.267
CXC 趋化因子配体(CXCL)8	355.913	0.458	13	0.236	4.000	8.432
IL-1B	166.726	0.410	10	0.180	3.000	5.174

表 3 清肝滋肾方治疗 OBH 核心成分与关键靶点

Table 3 Core components and key targets of Qinggan Zishen prescription in treatment of OBH

药物	编号	成分	靶点
鬼针草/女贞子	MOL000006	毛地黄黄酮 luteolin	APP、MAPK1、VEGFA、RELA、IL-4
鬼箭羽/鬼针草/黄连/女贞子	MOL000098	槲皮素 quercetin	CXCL8、MAPK1、HIF1A、VEGFA、IGFBP3、IGF2、RELA、CASP8、IL-1B、CCL2
鬼箭羽/女贞子/山茱萸/玄参	MOL000358	甾醇 beta-sitosterol	CASP8
鬼箭羽/女贞子	MOL000422	山柰酚 kaempferol	RELA、MAPK8
鬼箭羽	MOL001040	(2R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	ESR1、NR3C1
黄连	MOL000785	黄藤素 palmatine	ESR1
	MOL001454	小檗碱 berberine	ESR1
	MOL001458	黄连碱 coptisine	ESR1
	MOL002668	甲基黄连碱 worenine	ESR1
	MOL002894	小檗红碱 berberrubine	ESR1
	MOL002897	表小檗碱 epiberberine	ESR1
女贞子	MOL004576	黄杉素 taxifolin	RELA
	MOL005147	灵芝苷 lucidumside D _{qt}	ESR1
山茱萸	MOL005531	远华蟾蜍精 telocinobufagin	NR3C1
鬼针草	MOL006438	(2E)-2-(3,4-dihydroxybenzylidene)-6,7-dihydroxy-benzofuran-3-one	ESR1
玄参	MOL007662	玄参苷 harpagoside _{qt}	ESR1

(CC)、分子功能(MF)3个方面,其中BP 1 334条,CC 14条, MF 71条,分别取BP、CC、MF排名前10名的条目进行可视化分析($Q < 0.05$)。见图3。生物过程涉及对脂多糖的反应、对细菌来源分子的反应及上皮细胞的增生等;细胞组成涉及分泌颗粒内腔、胞质囊腔及囊腔等;分子功能涉及信号受体激

动剂活性、细胞因子受体结合、受体配体活动等

方面。
3.7 清肝滋肾方 KEGG 富集分析 KEGG 富集分析共获得 104 条通路,前 30 条通路显示,清肝滋肾方治疗 OBH 的效应机制涉及 IL-17 信号通路,糖尿病并发症晚期糖基化终产物(AGE)/晚期糖基化终

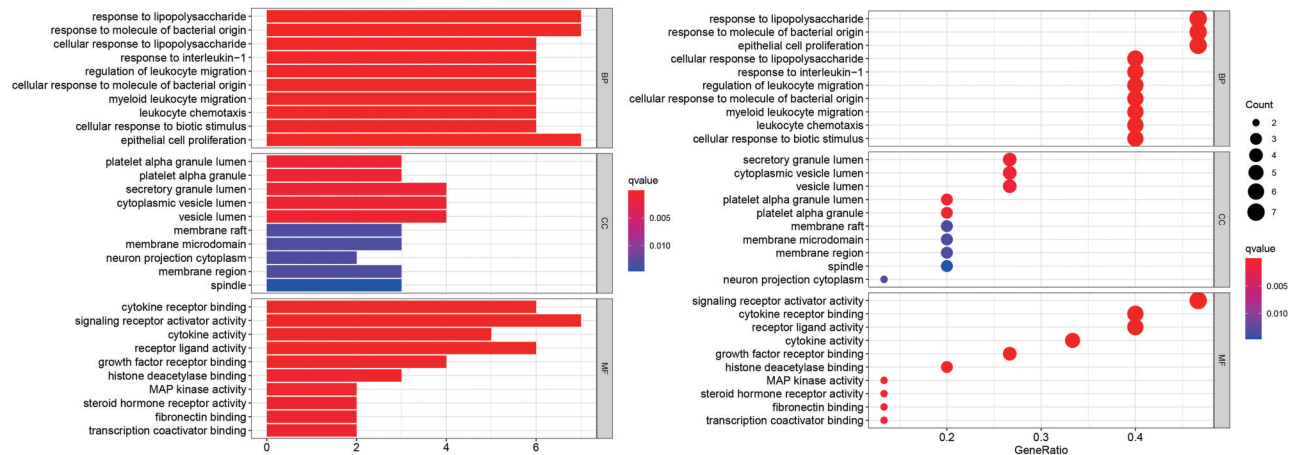


图 3 清肝滋肾方 GO 富集分析

Fig.3 GO enrichment analysis of Qinggan Zishen prescription

产物受体 (RAGE) 信号通路, NOD 样受体信号通路, Toll 样受体信号通路和动脉粥样硬化, 阿尔茨海

默病等。根据 Count 值发现, 主要富集于糖尿病并发症 AGE/RAGE 信号通路。见图 4。

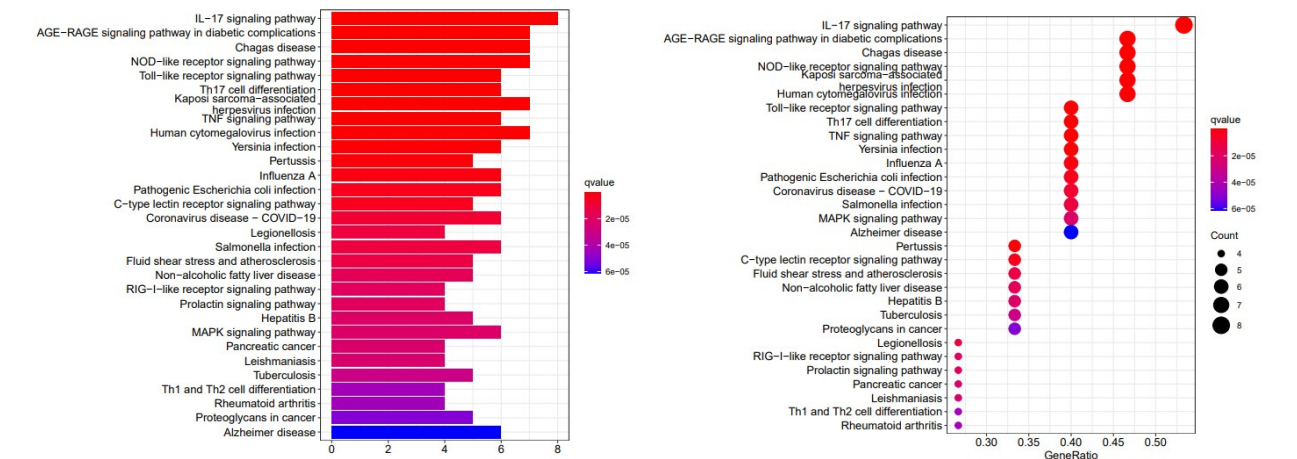


图 4 清肝滋肾方 KEGG 富集分析

Fig.4 KEGG enrichment analysis of Qinggan Zishen prescription

4 讨论

虽然 OBH 是现代医学的概念, 但是中医对 OBH 的相关描述最早见于《黄帝内经·灵枢》, 其将肥胖分为“膏人”“脂人”和“肉人”3 种类型, 其中“纵腹垂腴、皮缓、胛肉不坚”的膏人, 与 OBH 腹型肥胖的概念较为贴近, 根据 OBH 的症状和发病特点中医多将其归纳为“眩晕”“头痛”和“肥胖”等疾病范畴。《黄帝内经》中“肥贵人, 膏粱之疾也”, 明确指出了其发病与不健康的生活方式密切相关, 并提出膏人“泽而大多气, 多气者热”“肥者令人内热”等观点, 结合“眩晕”“头痛”等高血压阴虚阳亢的本质特点, 课题组认为 OBH 的发病多因于肾虚肝热, 因此清肝滋肾是其治疗大法, 清肝滋肾方蕴含“三补三泻”之义, 方中鬼针草、鬼箭羽和黄连清肝热, 酒萸肉、女

贞子和玄参滋肾阴, 诸药合用共奏标本兼治之功, 正契合 OBH 的病机特点。鉴于本研究随访中多地爆发疫情, 患者的生活方式和饮食管理受到干扰, 部分指标改善虽未达到统计学差异, 但干预后仍可发现观察组的 W、H、WHR、FINS 和 HOMA-IR 等代谢指标较对照组有明显的改善, 显示出清肝滋肾方对 OBH 代谢紊乱的调节作用, 其对 OBH 的干预作用主要在于减少体脂含量和改善糖脂代谢, 且对糖代谢的影响较为显著。

为探究清肝滋肾方的潜在药理机制, 课题组利用网络药理学筛选出清肝滋肾方治疗 OBH 的核心成分 17 种, 包括毛地黄黄酮、槲皮素、甾醇、山柰酚和小檗碱等。毛地黄黄酮为鬼针草和女贞子的主要成分, 代谢相关的基础研究表明, 一方面毛地黄

黄酮可以通过肾损伤分子-1(Kim-1)/核转录因子- κ B(NF- κ B)/核转录因子E₂相关因子2(Nrf2)信号通路缓解氟化钠引起的高血压和心血管并发症,另一方面可以通过抗氧化应激改善高脂饮食诱导的肥胖大鼠全身代谢改变和血管功能障碍^[14-15]。槲皮素与甾醇具有明显减少脂质代谢产物,缓解动脉粥样硬化的作用,与心血管疾病、癌症、老年痴呆症和其他代谢紊乱疾病均相关^[16-18]。山柰酚可以减少炎症因子对高血压大鼠血管的损害,使其血压下降,同时能减轻肥胖小鼠体内脂质沉积和脂肪组织炎症,改善肠道菌群稳态^[19-20]。小檗碱是黄连的重要成分,有学者发现小檗碱通过激活过氧化物酶增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α (PGC-1 α),调节解偶联蛋白1(UCP1)的转录,促进白色脂肪棕色化进程以达到增加产热、减轻体质量的目的^[21]。

另外,清肝滋肾方治疗OBH的靶点主要集中在ESR1、APP和VEGFA等。APP在阿尔茨海默病中研究较为丰富,近来也有研究指出痴呆和心血管疾病的发展中有重叠的分子机制,淀粉样蛋白可能在其中发挥重要作用^[22]。VEGFA是调节脂肪组织血管生成的关键因子,有研究表明敲除ESR1的雌性小鼠的腹股沟和性腺白色脂肪组织中VEGFA表达减低,这提示雌激素(E₂)/ESR1可能在调节脂肪组织的血管生成中发挥重要作用^[23]。KEGG富集分析结果表明清肝滋肾方治疗OBH的主要途径是AGE/RAGE信号通路,AGE的形成会随着衰老和高血糖状态而加速,这些化合物蓄积在人体内破坏细胞功能,导致不同的病理生理状况。AGE/RAGE通路激活蛋白激酶C(PKC),活化NF- κ B和活性氧(ROS),放大机体炎症反应、氧化应激反应等,进一步发展为大血管和微血管病变^[24-26]。有学者证明果糖饮食可以刺激大鼠RAGE信号,诱导其产生ROS,从而损害蛋白激酶B/神经型一氧化氮合酶/一氧化氮(Akt/nNOS/NO)信号通路,最终导致血压增高^[27]。也有学者发现RAGE缺陷小鼠的胰岛素抵抗程度和糖耐量异常均得到明显改善,并且具有增强白色脂肪棕色化的特点^[28]。越来越多证据发现AGE/RAGE通路在肥胖相关性高血压病中发挥的重要作用,同时,AGE/RAGE通路对非酒精性脂肪肝、癌症和老年痴呆症等疾病有不良影响^[29-31]。结合临床研究中清肝滋肾方表现出的对糖代谢调控的积极作用,课题组认为,肥胖患者常伴随胰岛素抵抗,长期可能导致血糖升高,促使AGE/RAGE通路产生不良代谢产物,根据网络药理的分析结果,

AGE/RAGE通路可能为清肝滋肾方的重要调控机制,但目前尚待基础实验验证。

综上所述,在本次临床研究中清肝滋肾方展现对OBH代谢紊乱的干预效果,表明OBH患者临床治疗中早期联用中药干预,有助于减少OBH患者的总体心血管风险,从而使其临床进一步获益。同时,网络药理学结果显示清肝滋肾方“多成分-多靶点-多通路”的作用特点,本次研究也发现了清肝滋肾方潜在的作用机制,但由于中药煎煮中相互作用的复杂性及网络药理学方法研究的局限性,本研究的结论尚需动物及体外实验的进一步验证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] SHIHAB H M, MEONI L A, CHU A Y, et al. Body mass index and risk of incident hypertension over the life course: The Johns Hopkins Precursors Study [J]. *Circulation*, 2012, 126(25):2983-2989.
- [2] PIRILLO A, CASULA M, OLMASTRONI E, et al. Global epidemiology of dyslipidaemias [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(10):689-700.
- [3] POWELL-WILEY T M, POIRIER P, BURKE L E, et al. Obesity and cardiovascular disease: A scientific statement from the American Heart Association [J]. *Circulation*, 2021, 143(21):e984-e1010.
- [4] HÖCHSMANN C, DORLING J L, MARTIN C K, et al. Effects of a 2-year primary care lifestyle intervention on cardiometabolic risk factors: A cluster-randomized trial [J]. *Circulation*, 2021, 143(12):1202-1214.
- [5] WEEKE P, ANDERSSON C, FOSBØL E L, et al. The weight lowering effect of sibutramine and its impact on serum lipids in cardiovascular high risk patients with and without type 2 diabetes mellitus - an analysis from the SCOUT lead-in period [J]. *BMC Endocr Disord*, 2010, 10:3.
- [6] WEBER M A, MANSFIELD T A, CAIN V A, et al. Blood pressure and glycaemic effects of dapagliflozin versus placebo in patients with type 2 diabetes on combination antihypertensive therapy: A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2016, 4(3):211-220.
- [7] 李譔, 蒋卫民. 高血压合并糖调节受损中医认识及研究进展[J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(8):1146-1148.
- [8] 蒋卫民, 唐蜀华, 汪云翔, 等. 针箭颗粒对高血压患者胰岛素抵抗瘀热证候及炎症因子的影响[J]. *中国中医急症*, 2010, 19(12):2011-2012.
- [9] ZHU Y, HUANG J J, ZHANG X X, et al. Qing Gan Zi

- Shen Tang alleviates adipose tissue dysfunction with up-regulation of SIRT1 in spontaneously hypertensive rat[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 105:246-255.
- [10] 张箫箫,殷晓威,严羽,等. 清肝滋肾中药对高脂喂养自发性高血压大鼠血清炎症因子的影响[J]. *中医杂志*, 2017, 58(15):1316-1318.
- [11] 中华医学会心血管病学分会高血压学组. 肥胖相关性高血压管理的中国专家共识[J]. *中华心血管病杂志*, 2016, 44(3):212-219.
- [12] 中国高血压防治指南修订委员会, 高血压联盟(中国), 中华医学会心血管病学分会中国医师协会高血压专业委员会, 等. 中国高血压防治指南(2018年修订版)[J]. *中国心血管杂志*, 2019, 24(1):24-56.
- [13] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2002.
- [14] OYAGBEMI A A, OMOBOWALE T O, OLA-DAVIES O E, et al. Luteolin-mediated Kim-1/NF- κ B/Nrf2 signaling pathways protects sodium fluoride-induced hypertension and cardiovascular complications [J]. *Biofactors*, 2018, 44(6):518-531.
- [15] GENTILE D, FORNAI M, PELLEGRINI C, et al. Luteolin prevents cardiometabolic alterations and vascular dysfunction in mice with HFD-induced obesity [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:1094.
- [16] 冯亚莉,李浩,刘娟,等. 槲皮素研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(20):5185-5193.
- [17] JIANG Y H, LI X, NIU W, et al. β -Sitosterol regulated microRNAs in endothelial cells against an oxidized low-density lipoprotein[J]. *Food Funct*, 2020, 11(2):1881-1890.
- [18] WU X, YAN R, CAO P, et al. Structural advances in sterol-sensing domain-containing proteins [J]. *Trends Biochem Sci*, 2022, 47(4):289-300.
- [19] SHAUKAT B, MEHMOOD M H, SHAH S, et al. *Ziziphus oxyphylla* hydro-methanolic extract ameliorates hypertension in L-NAME induced hypertensive rats through NO/cGMP pathway and suppression of oxidative stress related inflammatory biomarkers[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 285:114825.
- [20] BIAN Y, LEI J, ZHONG J, et al. Kaempferol reduces obesity, prevents intestinal inflammation, and modulates gut microbiota in high-fat diet mice [J]. *J Nutr Biochem*, 2022, 99:108840.
- [21] ZHAO J V, YEUNG W F, CHAN Y H, et al. Effect of berberine on cardiovascular disease risk factors: A mechanistic randomized controlled trial[J]. *Nutrients*, 2021, 13(8):2550.
- [22] STAKOS D A, STAMATELOPOULOS K, BAMPATSIAS D, et al. The Alzheimer's disease amyloid-beta hypothesis in cardiovascular aging and disease: JACC focus seminar[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(8):952-967.
- [23] FATIMA L A, CAMPHELLO R S, SANTOS R S, et al. Estrogen receptor 1 (ESR1) regulates VEGFA in adipose tissue[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):16716.
- [24] ZENG C, LI Y, MA J, et al. Clinical/translational aspects of advanced glycation end-products [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(12):959-973.
- [25] FARMER D G, KENNEDY S. RAGE, vascular tone and vascular disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2009, 124(2):185-194.
- [26] FARIA A, PERSAUD S J. Cardiac oxidative stress in diabetes: Mechanisms and therapeutic potential [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 172:50-62.
- [27] WU C J, CHENG P W, KUNG M H, et al. Glut5 Knockdown in the nucleus tractus solitarius alleviates fructose-induced hypertension in rats[J]. *J Nutr*, 2022, 152(2):448-457.
- [28] FENG Z, DU Z, SHU X, et al. Role of RAGE in obesity-induced adipose tissue inflammation and insulin resistance [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1):305.
- [29] AHMAD S, KHAN M Y, RAFI Z, et al. Oxidation, glycation and glycoxidation-the vicious cycle and lung cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 49:29-36.
- [30] BYUN K, YOO Y, SON M, et al. Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 177:44-55.
- [31] DEHNAD A, FAN W, JIANG J X, et al. AGER1 downregulation associates with fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis and type 2 diabetes [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(8):4320-4330.

[责任编辑 王鑫]