

· 数据挖掘 ·

基于网络药理学探讨芪术颗粒治疗糖尿病肾病的作用机制

蒯亚东¹, 高文静¹, 侯敏¹, 王攀¹, 雷蕾², 任钧国^{1*}

(1. 中国中医科学院西苑医院基础医学研究所, 北京 100091;

2. 中国中医科学院中医药信息研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的:运用网络药理学的方法,探索芪术颗粒治疗糖尿病肾病的作用机制。方法:采用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP),中医百科全书数据库(ETCM),以口服生物利用度和类药性为限定条件筛选出芪术颗粒中各药的化学成分及其蛋白靶点,并通过UniProt数据库将蛋白靶点规范为相应的基因名称;通过在线《人类孟德尔遗传》数据库(OMIM),疾病-基因数据库(DisGeNET),治疗靶标数据库(TTD),ETCM数据库检索糖尿病肾病的相关基因;两者取交集之后,通过蛋白质相互作用数据库(String)构建蛋白互作网络,使用Cytoscape分析网络的核心靶点,使用KOBAS 3.0数据库对相关靶点进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。结果:从芪术颗粒中共得到化学成分93个,涉及到254个靶点,与糖尿病肾病相关的基因607个,取交集后确定了76个芪术颗粒治疗糖尿病肾病的靶标,包括蛋白激酶B1(Akt1),血管内皮生长因子 α (VEGFA),白细胞介素(IL)-6,肿瘤坏死因子(TNF),丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1),基质金属蛋白酶(MMP)-9等核心靶点,经过GO分析和KEGG分析,芪术颗粒可以影响细胞对氮化合物的反应、调节活性氧代谢过程等生物过程,调控糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物(AGE)/晚期糖基化终产物受体(RAGE)信号通路,流体剪切应力和动脉粥样硬化,IL-17信号通路,缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路,TNF信号通路等通路。结论:芪术颗粒对糖尿病肾病的治疗作用可能是影响Akt1,VEGFA,IL-6,TNF,MAPK1,MMP-9等靶点,调控糖尿病并发症中的AGE/RAGE信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化,IL-17信号通路,HIF-1信号通路,TNF信号通路等通路发挥的,可以为进一步的基础实验研究提供理论参考。

[关键词] 网络药理学; 芪术颗粒; 糖尿病肾病; 信号通路

[中图分类号] R2-0;R289;R285.5;R587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)24-0161-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20202438

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201016.1305.003.html>

[网络出版日期] 2020-10-16 14:38

Network Pharmacology Approach to Explore Mechanisms of Qizhu Granules for Treatment of Diabetic Nephropathy

LIN Ya-dong¹, GAO Wen-jing¹, HOU Min¹, WANG Pan¹, LEI Lei², REN Jun-guo^{1*}

(1. Institute of Basic Medical Sciences of Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences,

Beijing 100091, China; 2. Institute of Information on Traditional Chinese Medicine,

China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the mechanism of Qizhu granules in the treatment of diabetic nephropathy by using network pharmacology. **Method:** The Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform database (TCMSP) and The Encyclopedia of Traditional Chinese Medicine(ETCM) database were used to screen out the chemical constituents and protein targets of each drug in

[收稿日期] 20200910(003)

[基金项目] 首都卫生发展科研专项项目(2018-2-4175);国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301018);中国中医科学院基本科研业务费自主选题项目(ZZ11-027)

[第一作者] 蒯亚东,在读硕士,从事中药药理研究,Tel:010-62835612,E-mail:1561759845@qq.com

[通信作者] *任钧国,博士,研究员,从事中药药理研究,Tel:010-62835612,E-mail:reek2003@163.com

the Qizhu granules based on oral bioavailability and drug-like properties. The protein target was standardized into the corresponding gene name through the UniProt database. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), DisGeNET, Therapeutic Target Database (TTD), ETCM database were used to search for related targets of diabetic nephropathy, after the intersection of the two, construct a protein interaction network through protein interaction database (STRING), use Cytoscape to analyze the core target of the network, and the relevant targets were analyzed by KOBAS 3.0 database for Gene Ontology (GO) pathway enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. **Result:** A total of 93 chemical components were obtained from Qizhu granules, involving 254 targets, and 607 targets related to diabetic nephropathy. After the intersection, 76 sputum granules were determined to treat diabetic nephropathy, including protein kinase B1 (Akt1), vascular endothelial growth factor (VEGFA), interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor (TNF), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), matrix metalloproteinase (MMP)-9 and other core targets, after GO analysis and KEGG analysis, Qizhu granules can affect cellular response to nitrogen compound, regulation of reactive oxygen species metabolic process and other biological processes, regulate advanced glycation end product (AGE)/advanced glycation end product receptor (RAGE) signaling pathway in diabetic complications, fluid shear stress and atherosclerosis, IL-17 signaling pathways, HIF-1 signaling pathways TNF signaling pathways and other pathways. **Conclusion:** The therapeutic effect of Qizhu granules on diabetic nephropathy may affect Akt1, VEGFA, IL-6, TNF, MAPK1, MMP-9 and other targets, and regulate AGE/RAGE signaling pathway in diabetic complications, fluid shear stress and atherosclerosis, IL-17 signaling pathways, hypoxia-inducing factor-1 (HIF-1) signaling pathways TNF signaling pathways and other pathways, which can provide a theoretical reference for further basic experimental research.

[Key words] network pharmacology; Qizhu granules; diabetic nephropathy; signaling pathway

糖尿病肾病(DN)是由于慢性高血糖引起的肾脏损伤,是糖尿病重要的微血管并发症之一,临床上主要表现为持续性蛋白尿和(或)肾小球滤过率进行性下降,最终会形成终末期肾病(ESRD),据报道显示糖尿病患者的ESRD患病率比非糖尿病患者高达10倍,相比于单纯的糖尿病患者,糖尿病肾病患者的死亡风险也提高了3~12倍^[1-3]。目前,西医治疗DN的常规方法主要采用血管紧张素转化酶抑制剂、血管紧张素受体阻滞剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白2抑制剂等药物,但是这类药物作用途径单一,长期服用易产生依赖性,生殖和泌尿系统感染等不良反应,而且存在很大的残留风险^[4],效果尚不能令人满意。

中医药由于多途径、多靶点等特点,在治疗DN方面有着显著的优势,尤其在DN早期阶段。中医认为DN为本虚标实,气阴两虚及血瘀贯穿于疾病始末,因此,治疗也应以益气养阴、活血化瘀为主^[5-6]。芪术颗粒是本实验室自主研发的中药复方,由黄芪、女贞子、黄蜀葵花、白术、赤芍、金樱子、黄连、绵萆薢8味药组成,具有益气养阴,活血利水之效,用于早期2型糖尿病肾病。前期临床研究发现,芪术颗粒可以降低DN患者的血糖、血脂,改善倦怠

乏力、腰膝酸软、自汗盗汗、头身困重等症状,延缓病情的发展进程^[7-8];动物实验发现芪术颗粒具有抑制DN早期蛋白尿、促进肌酐排泄、调节血脂代谢、改善肾脏组织病理变化的作用^[9-10],同时,对阿霉素肾病大鼠的肝功能也具有明显的保护作用,但是其作用机制仍不甚清楚。

网络药理学是在系统生物学及计算机技术快速发展的基础上提出的,基于“疾病-基因-靶点-药物”相互网络,系统综合地解释药物对疾病的干预,从而揭示药物作用于人体的机制,强调从整体的角度研究药物与疾病的关系,这与中医的理论不谋而合^[11]。因此,本研究采用网络药理学的方法,对芪术颗粒治疗DN的作用机制展开探讨,为进一步的药理作用研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料 中药系统药理学数据库和分析平台数据库(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>), UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>),在线《人类孟德尔遗传》数据库(OMIM, <https://www.omim.org/>),疾病-基因数据库(DisGeNET, <http://www.disgenet.org/>),治疗靶标数据库(TTD, <http://db.idrblab.net/ttd/>),中医百科全书数据库(ETCM,

http://www.nrc.ac.cn:9090/ETCM/),在线绘制文氏图 jvenn (http://www.bioinformatics.com.cn/static/others/jvenn/index.html),蛋白质相互作用数据库 (STRING, https://string-db.org/), KOBAS 3.0 数据库 (http://kobas.cbi.pku.edu.cn/kobas3/? t=1), Cytoscape 3.7.2。

1.2 芪术颗粒所含化学成分及作用靶点的收集

TCMSP采用生物数学、统计物理等技术,开展人体ADME/Tox预测,整合器官水平的PBPK模型,建立细胞-分子网络的动态耦合技术,实现跨微观(分子、生化网络)到宏观(组织、器官)的多尺度模拟理论和数学方法,动态研究药物分子、靶标、细胞、组织、器官等之间的相互作用。本研究通过TCMSP数据库,ETCM数据库,以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为限定条件分别收集芪术颗粒中各药的化学成分,并根据相应化学成分收集相关蛋白靶点,通过UniProt数据库将蛋白靶点规范为相应的基因名称。

1.3 成分-靶点网络的构建与分析 将芪术颗粒的活性成分与靶点导入Cytoscape Version 3.7.2,构建成分-靶点网络,并根据度值(Degree)和节点介度(Betweenness)来分析网络,度值和节点介度越高,说明其对应的节点在网络中越重要。

1.4 DN相关基因收集 以“diabetic nephropathy”

为关键词,分别检索OMIM, DisGeNET, TTD, ETCM数据库收集DN的相关基因。

1.5 蛋白相互作用网络的构建及分析 通过在线网站jvenn构建维恩图,以获得芪术颗粒治疗DN的相关靶点,将相关靶点导入STRING数据库,选择物种为“Homo sapiens(人类)”,构建蛋白相互作用关系(PPI),将相关结果输出,提取结果中的“node1, node2, Combined score”,导入Cytoscape 3.7.2软件构建网路图,并对网络进行分析。

1.6 芪术颗粒治疗DN相关靶点的富集分析 将芪术颗粒治疗DN的相关靶点数据集导入KOBAS 3.0数据库,进行基因本体(GO)分析及京都基因和基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析,以探索芪术颗粒治疗DN的机制。

2 结果

2.1 活性成分筛选 按照OB≥30%和DL≥0.18的筛选标准,共得到芪术颗粒所含的活性成分93个,其中女贞子13个,绵草薺2个,金樱子7个,黄芪20个,黄连14个,赤芍29个,白术7个,黄蜀葵花1个(表1),山柰酚,β-谷甾醇,槲皮素等为多药共有的成分。根据相关成分查询TCMSP数据库,得到与芪术颗粒相关的靶点有926个,剔除重复项后,通过UniProt数据库将靶点规范为相应的基因名称,最后共得到254个靶点。

表1 芪术颗粒各药的主要活性成分及相关参数

Table 1 Main active ingredients and related parameters of Qizhu granules

名称	Mol ID	Molecule Name	OB/%	DL	名称	Mol ID	Molecule Name	OB/%	DL
女贞子	MOL005212	olitoriside_qt	103.23	0.78	黄连	MOL002897	epiberberine	43.09	0.78
女贞子	MOL005211	olitoriside	65.45	0.23	黄连	MOL002894	berberrubine	35.74	0.73
女贞子	MOL005209	lucidusculine	30.11	0.75	黄连	MOL002668	worenine	45.83	0.87
女贞子	MOL005195	syringaresinol diglucoside_qt	83.12	0.8	黄连	MOL001458	coptisine	30.67	0.86
女贞子	MOL005190	eriodictyol	71.79	0.24	黄连	MOL001454	berberine	36.86	0.78
女贞子	MOL005169	(20S)-24-ene-3β,20-diol-3-acetate	40.23	0.82	黄连	MOL000785	palmatine	64.60	0.65
女贞子	MOL005147	lucidumoside D_qt	54.41	0.47	黄连	MOL000762	palmidin A	35.36	0.65
女贞子	MOL005146	lucidumoside D	48.87	0.71	黄连	MOL000622	magnograndiolide	63.71	0.19
女贞子	MOL004576	taxifolin	57.84	0.27	黄连	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
女贞子	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	赤芍	MOL007025	isobenzoylpaeoniflorin	31.14	0.54
女贞子	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	赤芍	MOL007022	evofolin B	64.74	0.22
女贞子	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	赤芍	MOL007018	9-ethyl-neo-paeoniaflorin A_qt	64.42	0.30
女贞子	MOL000006	luteolin	36.16	0.25	赤芍	MOL007016	paeoniflorigenone	65.33	0.37
绵草薺	MOL013233	EINECS 213-897-0	71.96	0.72	赤芍	MOL007014	8-debenzoylpaeonidanin	31.74	0.45
绵草薺	MOL000546	diosgenin	80.88	0.81	赤芍	MOL007012	4-o-methyl-paeoniflorin_qt	56.70	0.43
金樱子	MOL008628	4'-methyl-N-methylcochlorine	53.43	0.26	赤芍	MOL007008	4-ethyl-paeoniflorin_qt	56.87	0.44
金樱子	MOL008622	methyl trametenolate	42.88	0.82	赤芍	MOL007005	albiflorin_qt	48.70	0.33

续表1

名称	Mol ID	Molecule Name	OB/%	DL	名称	Mol ID	Molecule Name	OB/%	DL
金樱子	MOL005030	gondoic acid	30.70	0.2	赤芍	MOL007004	albiflorin	30.25	0.77
金樱子	MOL001494	mandenol	42.00	0.19	赤芍	MOL007003	benzoyl paeoniflorin	31.14	0.54
金樱子	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	赤芍	MOL006999	stigmast-7-en-3-ol	37.42	0.75
金樱子	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75	赤芍	MOL006996	1-o-beta-d-glucopyranosylpaeonisuffrone_qt	65.08	0.35
金樱子	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	赤芍	MOL006994	1-o-beta-d-glucopyranosyl-8-o-benzoylpaeonisuffrone_qt	36.01	0.30
黄芪	MOL000442	1,7-dihydroxy-3,9-dimethoxypterocarpane	39.05	0.48	赤芍	MOL006992	(2R,3R)-4-methoxyl-distylin	59.98	0.30
黄芪	MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62	赤芍	MOL006990	(1S,2S,4R)-trans-2-hydroxy-1,8-cineole-B-D-glucopyranoside	30.25	0.27
黄芪	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26	赤芍	MOL005043	campest-5-en-3beta-ol	37.58	0.71
黄芪	MOL000433	FA	68.96	0.71	赤芍	MOL004355	spinasterol	42.98	0.76
黄芪	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	赤芍	MOL002883	ethyl oleate(NF)	32.40	0.19
黄芪	MOL000417	calycosin	47.75	0.24	赤芍	MOL002776	baicalin	40.12	0.75
黄芪	MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30	赤芍	MOL002714	baicalein	33.52	0.21
黄芪	MOL000392	formononetin	69.67	0.21	赤芍	MOL001925	paeoniflorin_qt	68.18	0.40
黄芪	MOL000387	bifendate	31.10	0.67	赤芍	MOL001924	paeoniflorin	53.87	0.79
黄芪	MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42	赤芍	MOL001921	lactiflorin	49.12	0.80
黄芪	MOL000379	9,10-dimethoxypterocarpan-3-O-beta-D-glucoside	36.74	0.92	赤芍	MOL001918	paeoniflorgenone	87.59	0.37
黄芪	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30	赤芍	MOL001002	ellagic acid	43.06	0.43
黄芪	MOL000374	5'-hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	41.72	0.69	赤芍	MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24
黄芪	MOL000371	3,9-di-O-methylisissolin	53.74	0.48	赤芍	MOL000449	stigmasterol	43.83	0.76
黄芪	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31	赤芍	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
黄芪	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75	赤芍	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
黄芪	MOL000239	jaranol	50.83	0.29	白术	MOL000072	8beta-ethoxy atractylenolide III	35.95	0.21
黄芪	MOL000211	mairin	55.38	0.78	白术	MOL000049	3beta-acetoxyatractylone	54.07	0.22
黄芪	MOL000098	quercetin	46.43	0.28	白术	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78
黄芪	MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yloctan-2-yl]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol	36.23	0.78	白术	MOL000028	alpha-amyrin	39.51	0.76
黄连	MOL013352	obacunone	43.29	0.77	白术	MOL000022	14-acetyl-12-senecioid-2E,8Z,10E-atractylentriol	63.37	0.30
黄连	MOL008647	moupinamide	86.71	0.26	白术	MOL000021	14-acetyl-12-senecioid-2E,8E,10E-atractylentriol	60.31	0.31
黄连	MOL002907	corchoroside A_qt	104.95	0.78	白术	MOL000020	12-senecioid-2E,8E,10E-atractylentriol	62.40	0.22
黄连	MOL002904	berlambine	36.68	0.82	黄蜀葵花	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
黄连	MOL002903	(R)-canadine	55.37	0.77					

2.2 成分-靶点网络的构建与分析 为了探索活性成分与靶点之间的关系,以相关成分与靶点构建成分-靶点网络,其中槲皮素作用于148个靶点,在网络中具有重要地位,可能是芪术颗粒治疗DN的重要活性成分。

2.3 DN相关基因的收集 以“diabetic nephropathy”为关键词,分别检索OMIM, DisGeNET, TTD, ETCM数据库,各得到相关基因85,560,17,10个,剔除重复项后共获得607个基因。

2.4 蛋白相互作用网络的构建及分析 通过绘制维恩图得到重复的靶点76个(图1),将靶点导入STRING数据库构建蛋白相互作用网络(图2),经过分析,该网络包括76个节点和1104条边,按照节点度值排序,前10位依次为蛋白激酶B1(Akt1),血管内皮生长因子 α (VEGFA),白细胞介素(IL)-6,肿瘤坏死因子(TNF),丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1),基质金属蛋白酶(MMP)-9,二氧化碳(CCl_2),前列腺素内过氧化物合酶(PTGS2),内皮型一氧化氮合酶(eNOS),JUN。

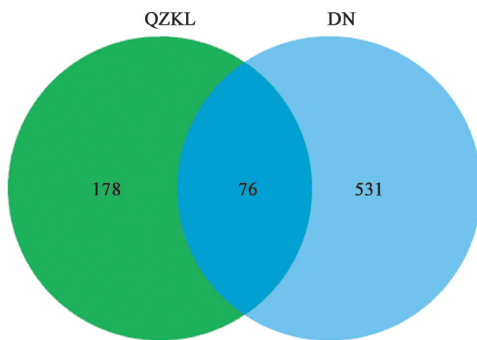


图1 芪术颗粒与DN的靶点交集
Fig. 1 Targets intersection diagram of Qizhu granules and DN

2.5 芪术颗粒治疗DN相关靶点的富集分析结果 利用KOBAS 3.0数据库对76个相关靶点进行富集分析,结果显示,芪术颗粒可影响细胞对氮化合物的反应、调节活性氧代谢过程等生物过程,调控糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物(AGE)/晚期糖基化终产物受体(RAGE)信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化,IL-17信号通路,缺氧诱导因子-1(HIF-1)信号通路,TNF信号通路等通路。见图3,4。

3 讨论

DN是糖尿病重要的微血管并发症之一,其发病机制十分复杂,目前仍不甚明确,但普遍认为与遗传因素、炎症反应、氧化应激、代谢紊乱、血流动力学等相关^[12]。中医辨病可归为“肾消”“虚劳”“关格”等范畴,中医认为DN多与先天不足、外感邪气、

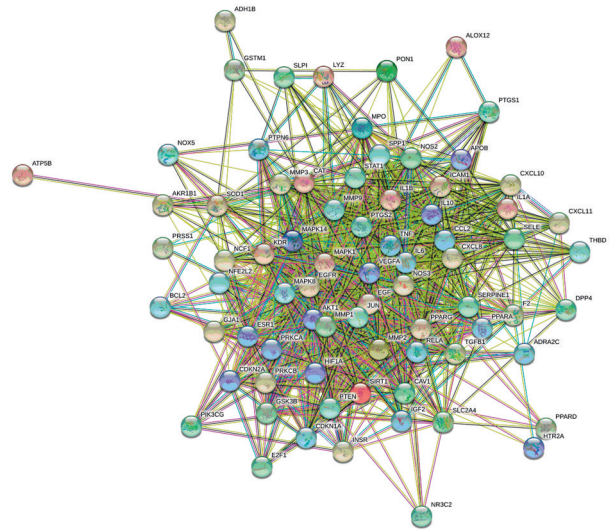


图2 芪术颗粒治疗DN的蛋白质相互作用网络(PPI)
Fig. 2 Protein interaction network of Qizhu granules for DN

饮食失节、房劳过度、情志失常、失治误治等有关,气阴两虚、血瘀为主要证型,治疗应以益气养阴、活血化瘀为主^[5-6,13]。芪术颗粒是本实验室自主研发的中药复方,在DN的治疗上效果显著,现代药理研究表明:黄芪为补中益气要药,主要化学成分为皂苷、多糖和黄酮等,具有调节血糖、血压、免疫系统、改善肝肾功能、抗炎、抗病毒、抗衰老等作用^[14-16];女贞子可以调节免疫、降血糖、降血脂、抗炎、抗肾纤维化等^[17],女贞子提取物能够降低血糖、血脂及减轻肾皮质氧化应激水平,对DN发挥防治作用^[18]。黄蜀葵花在抗肾脏纤维化、免疫抑制、减轻肾脏细胞损害、抑制炎症损害等方面有独特的疗效^[19]。但是芪术颗粒治疗DN的作用机制仍不明确。

本研究利用网络药理学方法对芪术颗粒治疗DN的活性成分、作用靶点、相关通路等方面进行了探讨。通过TCMSP等数据库筛选出93个活性成分和254个靶点,其中槲皮素为最重要的活性成分,槲皮素为黄酮类化合物,具有抗氧化、抗病毒、肾脏保护作用^[20]。有研究表明,槲皮素可以抑制DN的系膜细胞增殖^[21]和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)C1/核糖体S6蛋白激酶(p70S6K)信号介导的肾小管上皮-间质转化和肾纤维化^[22],改善DN的脂质代谢,氧化应激和DN大鼠足细胞损伤^[23-24],除此,对STZ诱导的DN小鼠也具有肾脏保护作用^[25]。代谢紊乱(血糖、血脂)贯穿于DN病程始终,是DN重要的发病机制之一, β -谷甾醇属于萜类化合物,具有降血脂、抗氧化、抗炎等药理活性,可以通过降低血脂等改善糖脂毒性,进而改善DN的病情进展^[26-27]。SHARMA等^[28]研究发现山萘酚能够通过

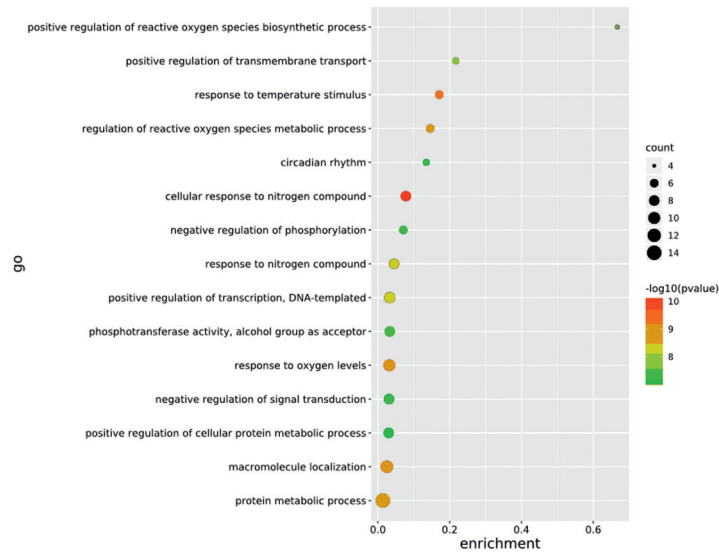


图3 芪术颗粒治疗DN靶标的GO

Fig. 3 GO enrichment analysis with targets of Qizhu granules for DN treatment

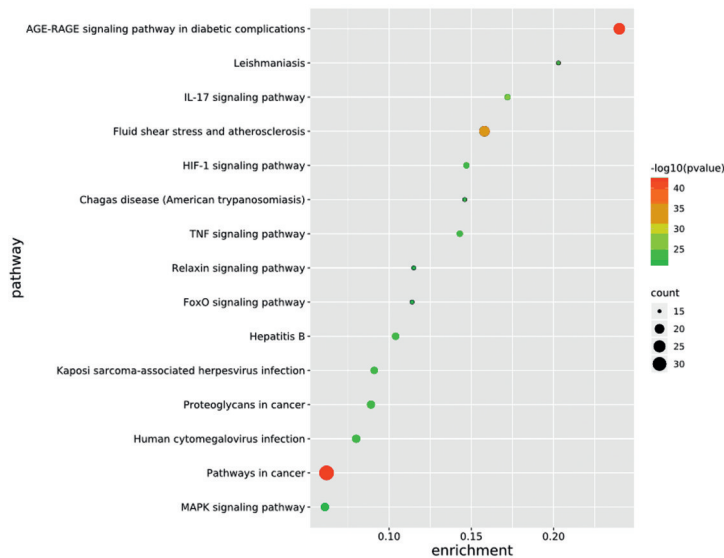


图4 芪术颗粒治疗DN靶标的KEGG

Fig. 4 KEGG enrichment analysis with targets of Qizhu granules for DN treatment

抑制 RhoA/Rho 激酶介导的炎症信号减弱糖尿病性肾病, 可以用作治疗糖尿病性肾病的潜在疗法。在芪术颗粒治疗 DN 的蛋白相互作用网络中有 76 个节点和 1 104 条边, 其中 Akt1, VEGFA 等基因在网络中处于重要的地位, 可能是芪术颗粒治疗 DN 的重要靶点。Akt 家族是丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 在调节生长、增殖、代谢等其他细胞活动中起关键作用, 并且 Akt 激活是参与肾脏损害的各种信号级联反应中的重要节点^[29]。余红等^[30]发现丹芪合剂的肾脏保护作用主要是通过降低糖尿病大鼠肾组织 Akt1 蛋白表达, 进而抑制上皮细胞-间充质细胞转化, 减少 FN 沉积来发挥的。VEGFA 属于血小板衍生生长

因子家族, 在肾组织中主要由足细胞和肾小管上皮细胞产生, 在保持肾小球和肾小管结构完整和功能稳定、抗间质纤维化等方面发挥着重要的作用, 过多或过少均可导致肾脏损伤^[31-32]。

通过芪术颗粒治疗 DN 预测靶点的生物过程富集分析, 可以发现芪术颗粒可以影响活性氧(ROS)代谢过程、细胞对氮化合物的反应等过程。ROS 主要由线粒体产生和清除, 在调节机体的生理功能中发挥着重要作用, 糖尿病患者长期高血糖会影响线粒体功能, 产生大量 ROS, 致使机体氧化与抗氧化机制失衡, 最终导致氧化应激, 氧化应激是引起 DN 发病的重要环节^[12, 33]。在 KEGG 富集分析中, 糖尿

病并发症中的AGE/RAGE信号通路,流体剪切应力和动脉粥样硬化,IL-17信号通路,HIF-1信号通路,TNF信号通路等通路与DN密切相关。现代研究表明AGE/RAGE信号通路是DN肾病发生发展的重要环节^[34],抑制糖基化的过程,可以有效抑制DN的进展,并且,一些用于治疗DN的药物也被证实与AGE/RAGE信号通路有关。普伐他汀可通过阻断AGEs/RAGE轴对糖尿病肾病的肾小管损害发挥作用^[35];小檗碱可以通过调节DN肾小球系膜细胞中AGEs/RAGE信号通路发挥肾脏保护作用^[36];熟地黄和山茱萸的有效部位改善db/db小鼠的肾脏损伤是通过抑制AGEs/RAGE/SphK1信号通路发挥作用的^[37]。组织缺氧存在于糖尿病患者肾脏中,并且是发展成DN的途径之一,慢性缺氧被认为是肾小管间质纤维化关键调节因子,与HIF-1 α 激活有关^[38]。研究发现二甲双胍可降低大鼠肾小管HIF-1 α 表达改善肾小管损伤^[38],李君等^[39]发现吡格列酮可能通过过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)途径下调DN大鼠肾脏HIF-1的表达,发挥肾保护作用;秦军燕等^[40]发现血管紧张素II(Ang II)抑制剂的肾功能改善作用可能与HIF-1 α 信号通路有关。

本研究通过网络药理学的方法研究了芪术颗粒治疗DN的作用机制,发现芪术颗粒可以影响ROS代谢过程、细胞对氮化合物的反应等过程,其作用机制可能与糖尿病并发症中的AGE/RAGE信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化,IL-17信号通路,HIF-1信号通路TNF信号通路等通路有关,体现了中医治疗的多途径、多靶点的特点;但是,本研究仅仅只是数据方面的分析,可能有一定的局限性,还需实验的进一步验证。

[参考文献]

[1] 中华医学会内分泌学分会. 中国成人糖尿病肾脏病临床诊断的专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015,31(5):379-385.

[2] ROUBY R A, ROHDE R D, CLARKE W R, et al. The irbesartan type II diabetic nephropathy trial: study design and baseline patient characteristics[J]. Nephrol Dial Transplant, 2019, doi: 10.1529/biophysj.106.101287.

[3] LEVIN A, TONELLI M, BONVENTRE J, et al. Global kidney health 2017 and beyond: a roadmap for closing gaps in care, research, and policy[J]. Lancet, 2017,390(10105):1888-1917.

[4] ALICIC R Z, ROONEY M T, TUTTLE K R. Diabetic

kidney disease: challenges, progress, and possibilities [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017, 12(12):2032-2045.

[5] 丘立富,赵进喜,吴文静,等. 基于文献的早期糖尿病肾病证候分布特点分析[J]. 环球中医药, 2016, 9(2):162-164.

[6] 史雅琼,马建伟. 2型糖尿病患者中医证型分布及其并发症证型特点[J]. 河南中医, 2017, 37(10):1789-1791.

[7] 王丽丹. 芪术颗粒治疗早期2型糖尿病肾脏病的临床初步探索性研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2019.

[8] 杨明. 芪术颗粒治疗早期2型糖尿病肾病临床探索性试验研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2017.

[9] 洪晓华,任建勋,王杨慧,等. 芪术颗粒对糖尿病肾病气阴两虚、痰浊阻络证大鼠早期蛋白尿抑制作用[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2015, 17(7):1392-1397.

[10] 洪晓华,任建勋,王杨慧,等. 芪术颗粒对阿霉素肾病大鼠肝功能减退的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(22):158-162.

[11] 张彦琼,李梢. 网络药理学与中医药现代研究的若干进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2015, 29(6):883-892.

[12] 张秀华,曹式丽. 糖尿病肾病的发病机制研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(6):1212-1216.

[13] 高俊丽,朱赟洁,王巍巍,等. 中医辨治糖尿病肾病的研究进展[J]. 四川中医, 2019, 37(1):216-221.

[14] 陈腾,简桂花,汪年松. 黄芪治疗糖尿病肾病的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017, 18(5):462-464.

[15] 郭晓玲,康丽霞,任美芳,等. 黄芪多糖对糖尿病肾病肾小管上皮细胞凋亡,转分化及ROS含量的影响研究[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(3):388-392.

[16] 祝高红,王筱雯,戚畅,等. 黄芪总黄酮通过调控miR-378对高糖诱导的HK-2细胞炎症因子水平的影响[J]. 免疫学杂志, 2019, 35(8):653-658.

[17] 毕莹,赵源,李知晓,等. 中药女贞子的研究进展[J]. 吉林中医药, 2019, 39(8):1117-1120.

[18] 王琛,王利萍,霍瑾璇,等. 女贞子提取物对糖尿病肾病大鼠糖脂代谢及氧化应激的影响[J]. 中医学报, 2017, 32(8):87-90.

[19] 宋增杰,曾佳丽,陈洪宇. 黄蜀葵花治疗慢性肾脏病的药理作用研究进展[J]. 甘肃中医药大学学报, 2016, 33(2):89-91.

[20] 马纳,李亚静,范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8):221-224.

[21] DU L, LI C C, QIAN X, et al. Quercetin inhibited

- mesangial cell proliferation of early diabetic nephropathy through the Hippo pathway [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 146: 104320.
- [22] LU Q, JI X, ZHOU Y, et al. Quercetin inhibits the mTORC1/p70S6K signaling-mediated renal tubular epithelial-mesenchymal transition and renal fibrosis in diabetic nephropathy [J]. *Pharmacol Res*, 2015, 99: 237-247.
- [23] JIANG X, YU J, WANG X, et al. Quercetin improves lipid metabolism via SCAP-SREBP2-LDLr signaling pathway in early stage diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 12: 827.
- [24] GAO F, HE X, LIANG S, et al. Quercetin ameliorates podocyte injury via inhibition of oxidative stress and the TGF- β_1 /Smad pathway in DN rats [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(62): 35413-35421.
- [25] GOMES I B S, PORTO M L, SANTOS M C L F S, et al. Renoprotective, anti-oxidative and anti-apoptotic effects of oral low-dose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy [J]. *Lipids Health Dis*, 2014, 13(1): 184.
- [26] 刘威良, 姬昱, 黄艾祥. β -谷甾醇的研究及开发进展 [J]. *农产品加工*, 2019, doi: 10.16693/j.cnki.1671-9646(X). 2019.01.022.
- [27] 肖志彬, 贾韩学, 刘小雷. β -谷甾醇药理活性的研究现状 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015, 15(8): 66-68.
- [28] SHARMA D, GONDALIYA P, TIWARI V, et al. Kaempferol attenuates diabetic nephropathy by inhibiting RhoA/Rho-kinase mediated inflammatory signalling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1610-1619.
- [29] LAN A, DU J. Potential role of Akt signaling in chronic kidney disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 30(3): 385-394.
- [30] 余红, 石明隽, 肖瑛, 等. 丹芪合剂下调糖尿病肾病大鼠肾组织 Akt1 的表达 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(7): 259-262.
- [31] MAJUMDER S, ADVANI A. VEGF and the diabetic kidney: more than too much of a good thing [J]. *J Diabetes Complications*, 2017, 31(1): 273-279.
- [32] 蒋慧, 丁国华. VEGF 对肾脏调节作用的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(11): 182-185.
- [33] 阎婷婷, 赵英政, 易宪文, 等. 氧化应激及炎症对糖尿病肾病的影响 [J]. *新乡医学院学报*, 2019, 36(8): 701-705.
- [34] 杨超茅, 杨志新, 马晓玲. AGEs-RAGE 信号通路在糖尿病肾病中的作用机制及中医药研究进展 [J]. *中医学报*, 2019, 34(256): 1864-1868.
- [35] ISHIBASHI Y, YAMAGISHI S, MATSUI T, et al. Pravastatin inhibits advanced glycation end products (AGEs)-induced proximal tubular cell apoptosis and injury by reducing receptor for AGEs (RAGE) level [J]. *Metabolism*, 2012, 61(8): 1067-1072.
- [36] QIU Y Y, TANG L Q, WEI W. Berberine exerts renoprotective effects by regulating the AGEs-RAGE signaling pathway in mesangial cells during diabetic nephropathy [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2017, 443: 89-105.
- [37] LV X, DAI G, LV G, et al. Synergistic interaction of effective parts in *Rehmanniae Radix* and *Cornus officinalis* ameliorates renal injury in C57BL/KsJ-db/db diabetic mice: involvement of suppression of AGEs/RAGE/SphK1 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185: 110-119.
- [38] TAKIYAMA Y, HARUMI T, WATANABE J, et al. Tubular injury in a rat model of type 2 diabetes is prevented by metformin: a possible role of HIF-1 α expression and oxygen metabolism [J]. *Diabetes*, 2011, 60(3): 981-992.
- [39] 李君, 王庆丽, 孙湘, 等. 缺氧诱导因子-1 在糖尿病肾病大鼠肾脏的表达水平 [J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(22): 4394-4396.
- [40] 秦军燕, 王琛, 杨婧, 等. Ang II 抑制剂对 HIF-1 α 在慢性肾衰大鼠肾组织中表达的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 2012, 33(9): 965-968.

[责任编辑 孙丛丛]