◆网络药理◆

基于网络药理学和分子对接探讨尿C方治疗IgA肾病作用机制

张涤，李慧洁，邓跃毅

上海中医药大学附属龙华医院，上海 200030

［摘要］**目的：**通过网络药理学探讨尿C方治疗IgA肾病（IgAN）的关键成分和作用机制。**方法：**通过中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）、PubChem、Swiss ADEM 和SwissTargetPrediction获得尿C方作用靶点；应用Cytoscape 3.9.1软件构建“药物-成分-靶点”相互作用网络；通过GeneCards、OMIM和DisGeNET平台获得IgAN作用靶点；通过Venn 2.1制作韦恩图获得尿C方和IgAN之间的交叉靶点并进行鉴定和可视化，并利用STRING数据库建立蛋白质-蛋白质相互作用网络（PPI）；借助DAVID数据库对交集靶点进行GO和KEGG富集分析并运用微生信在线平台对交集靶点进行GO和KEGG富集分析可视化；使用Autodock Vina软件进行分子对接验证，并利用PyMol软件得出对接结果。**结果：**共筛选得到尿C方有效成分70种及对应1 363个作用靶点，其中确定了10个关键活性成分。IgAN相关靶点1 593个，除重复项后获得823个疾病靶点，交集靶点111个。GO富集分析得到706个BP条目，63个CC条目，123个MF条目。KEGG富集分析得到161条与IgAN显著相关的通路。分子对接结果表明，核心活性成分与核心靶点之间存在较强的结合活性。**结论：**尿C方治疗IgAN的作用机制可能是通过槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、黄芩素等调控AGE-RAGE信号通路、IL-17信号通路、脂质和动脉粥样硬化等发挥治疗作用。

［关键词］IgA肾病；尿C方；网络药理学；分子对接技术；信号通路
［中图分类号］R285 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2024）05-0187-13
DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2024.05.036

Mechanism of Urine C Prescription in Treating IgA Nephropathy Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

ZHANG Di, LI Huijie, DENG Yueyi

Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200030, China

Abstract: Objective: To explore the key components and mechanism of Urine C Prescription in treating IgA nephropathy (IgAN) based on network pharmacology. **Methods:** The targets of Urine C Prescription were obtained by Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Platform (TCMSP), PubChem, Swiss ADEM and SwissTargetPrediction. The “medicines-components-targets” interaction network was constructed via Cytoscape 3.9.1 software. The IgAN action targets were obtained by GeneCards, OMIM and DisGeNET platforms. The intersection targets between Urine C Prescription and IgAN were identified and visualized by Venn 2.1, and protein-protein interaction (PPI) network was established by STRING database. The intersection targets were given GO and KEGG enrichment analysis by

［收稿日期］2023-07-20
［修回日期］2023-12-07
［基金项目］上海市临床重点专科建设项目（shslczdzk04201）
［作者简介］张涤（1997-），女，在读硕士研究生，E-mail：zhangdi2706@163.com。
［通信作者］邓跃毅（1965-），男，主任医师，E-mail：sh_dengyueyi@163.com。

DAVID database and were visualized under GO and KEGG enrichment analysis through Bioinformatics online platform. Autodock Vina software was used to verify molecular docking，and PyMol software was used to obtain docking results. **Results**：A total of 70 kinds of active components and 1 363 corresponding action targets of Urine C Prescription were selected，among which 10 key active components were identified. There were 1 593 IgAN-related targets，and after removing the duplicate targets，823 disease targets and 111 intersection targets were obtained. GO enrichment analysis yielded 706 BP items，63 CC items and 123 MF items. KEGG enrichment analysis showed that 161 pathways were significantly correlated with IgAN. The results of molecular docking showed that there was strong binding activity between the core active components and the core targets. **Conclusion**：The mechanism of Urine C Prescription in treating IgAN may be the regulation of AGE-RAGE signaling pathway，IL-17 signaling pathway，lipid and atherosclerosis pathway through quercetin，kaempferol，β-sitosterol and baicalein.

Keywords：IgA nephropathy；Urine C Prescription；Network pharmacology；Molecular docking technology；Signal pathway

IgA肾病(IgAN)是一种自身免疫性疾病，是肾小球肾炎的最常见原因[1]。可发病于任何年龄，但发病高峰期为20～30岁[2]。在IgAN中，肾小球因肾脏中IgA复合物的沉积而受损，逐渐损坏肾脏导致慢性肾炎持续进展，最后进展到需要透析或肾移植的终末期肾病，是非糖尿病成人特发性肾病综合征的最常见原因[3]。大多数患者表现为单发性或发作性肉眼血尿，或是在常规尿液检查发现镜下血尿和(或)蛋白尿。从无症状血尿和蛋白尿到肉眼血尿，并迅速进展为肾功能不全。

IgAN属于中医学尿血、水肿、肾风、虚劳等范畴，病机为本虚标实，本虚多为气虚、阴虚或阳虚，标实包括风热、湿热、热毒、瘀血等。尿C方为陈以平教授创立的经验用方——上海中医药大学附属龙华医院肾内科协定方，广泛运用于治疗IgAN，其由黄芪、川芎、葛根、黄精和杜仲5味中药组成，有益气活血、健脾补肾的功效。本研究通过网络药理学方法确定尿C方和IgAN的靶点，构建药物-成分-靶点网络，鉴定关键活性化合物，建立PPI网络，鉴定枢纽基因。并进行了GO和KEGG富集分析，以探索共同靶点的信号通路和生物学功能。利用分子对接技术验证了所选活性物质与靶点的结合，为后续尿C方治疗IgAN的研究提供了依据。

1 资料与方法

1.1 尿C方药物活性成分筛选 利用中药系统网络(TCMSP；https://www.tcmsp-e.com/tcmsp.php)数据库筛选尿C方药物的活性成分[4]。根据药代动力学参数：吸收、分布、代谢、排泄(ADME)、生物口服利用度(OB)和类药性指数(DL)，以OB≥30%和DL≥0.18作为筛选活性成分的阈值[5-6]，筛选尿C方的化学成分。

1.2 筛选尿C方可能靶点 从TCMSP和Swiss Target Prediction数据库(http://www.swisstargetprediction.ch/)获得药物潜在活性成分的靶标。然后，利用Uniprot(http://www.uniprot.org/)蛋白质数据库中的UniProtKB搜索功能用于标准化相关靶标的基因，物种设置为“人类”，状态设置为“已审查”[7]。在PubChem[8](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)中搜索未找到有效靶点的活性成分的化学结构，选择Swiss ADEM，以GI absorption值为HIGH，并且DL中至少有两个YES进行筛选[9-10]，利用Swiss Target Prediction(http://www.swisstargetprediction.ch/)为筛选后的化学成分预测可能的基因靶点，将标准化后的靶点去重得到最终的药物靶基因。

1.3 药物-成分-靶点网络构建 为了构建药物-成分-靶点网络，使用Cytoscape 3.9.1软件(https://cytoscape.org/)来连接活性成分及其相关靶标。然后，使用网络分析仪进行拓扑分析，以突出尿C方在IgAN治疗中的关键活性成分和靶点。

1.4 IgAN靶点筛选 IgAN相关的靶基因是以“IgA

nephropathy”为关键检索词从GeneCards(https://www.genecards.org/)数据库[11](相关性得分≥10)、DisGeNET(https://www.disgenet.org/home/)数据库[12]、人类在线孟德尔遗传(OMIM，https://omim.org/)数据库[13]中收集。合并不同数据库的IgAN相关靶标并去除重复项，得到IgAN的潜在靶点。最后将潜在靶点在UniProt上统一为基因名称。

1.5 尿C方与IgAN交集靶点 通过Venn 2.1(http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/)获得尿C方和IgAN之间的交叉靶基因并进行鉴定和可视化。得到尿C方治疗IgAN的交集靶点，并绘制韦恩图。

1.6 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建 利用交互数据库平台“检索相互作用基因/蛋白质检索工具”(STRING)(https://string-db.org/)[14]搜索药物-疾病交叉靶点，构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络。在数据库检索中，设置蛋白质种类为“Homo sapiens”，去除孤立节点，置信度设置为0.9以显示PPI网络。之后，使用Cytoscape 3.9.1软件对交互网络进行可视化[15]。

1.7 GO分析和KEGG通路富集分析 DAVID(https://david.ncifcrf.gov/)数据库是一种全面的功能注释工具，它由一个全面的知识库和一组功能分析工具组成。不仅可以用于基因差异分析，还可以用于途径富集[16-17]。通过DAVID数据库，对用于治疗IgAN的尿C方潜在靶标进行GO和KEGG富集分析，分析尿C方治疗IgAN的主要生物学功能。GO分析包括生物过程(BP)、细胞组成(CC)、分子功能(MF)，根据*P*值大小，各取前10位条目。KEGG富集分析根据*P*值取前20位富集结果。获得的数据由生物信息学(http://www.bioinformatics.com.cn/)组织和可视化。结果以条形图和气泡图表示。

1.8 分子对接 选取复方PPI网络前15个基因蛋白和“复方-活性成分-靶点”网络图前10的活性成分，使用中药网络药理学分析系统TCMNPAS以PSOVina算法进行分子对接，计算蛋白与药物化学成分之间结合的亲和力及活性口袋位点。利用PubChem数据库获得分子结构，从PDB数据库中获得蛋白质结构。采用Autodock Vina V1.1.2软件(https://vina.scripps.edu/)进行分子对接[18]，评估化合物与靶蛋白的亲和力。进一步利用PyMOL3.8分析了对接结果的交互模式。

2 结果

2.1 尿C方中药活性成分及靶点确定 见表1。从TCMSP数据库中检索到70种尿C方组成中药的潜在活性成分，筛选条件为OB≥30%，DL≥0.18。使用SwissTargetPrediction数据库进行成分补充。尿C方一共含有5种中药，其中黄芪、葛根、川芎、黄精和杜仲分别筛选出了20、4、6、12和28个成分。利用TCMSP数据库和SwissTargetPrediction数据库获取尿C方中药活性成分1 363个靶点，其中黄芪533个靶点、葛根87个靶点、川芎37个靶点、黄精135个靶点、杜仲571个靶点，通过删除重复靶点和消除非活性靶点，最终获得该药物383个潜在靶点。将其导入UniProt数据库进行基因名称标准化。

表1 尿C方药物有效成分

Herbs	Mol ID	Active compounds	OB	DL
黄芪	MOL000211	Mairin	55.38	0.78
黄芪	MOL000239	Jaranol	50.83	0.29
黄芪	MOL000296	hederagenin	36.91	0.75
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
黄芪	MOL000354	isorhamnetin	49.60	0.31
黄芪	MOL000374	5′-hydroxyiso-muronulatol-2′，5′-di-*O*-glucoside	41.72	0.69
黄芪	MOL000371	3，9-di-*O*-methylnissolin	53.74	0.48
黄芪	MOL000378	7-*O*-methylisomucronulatol	74.69	0.30
黄芪	MOL000379	9，10-dimethoxypterocarpan-3-*O*-β-*D*-glucoside	36.74	0.92
黄芪	MOL000380	(6aR，11aR)-9，10-dimethoxy-6a，11a-dihydro-6H-benzofurano[3，2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42
黄芪	MOL000387	Bifendate	31.10	0.67

续表 1　尿 C 方药物有效成分

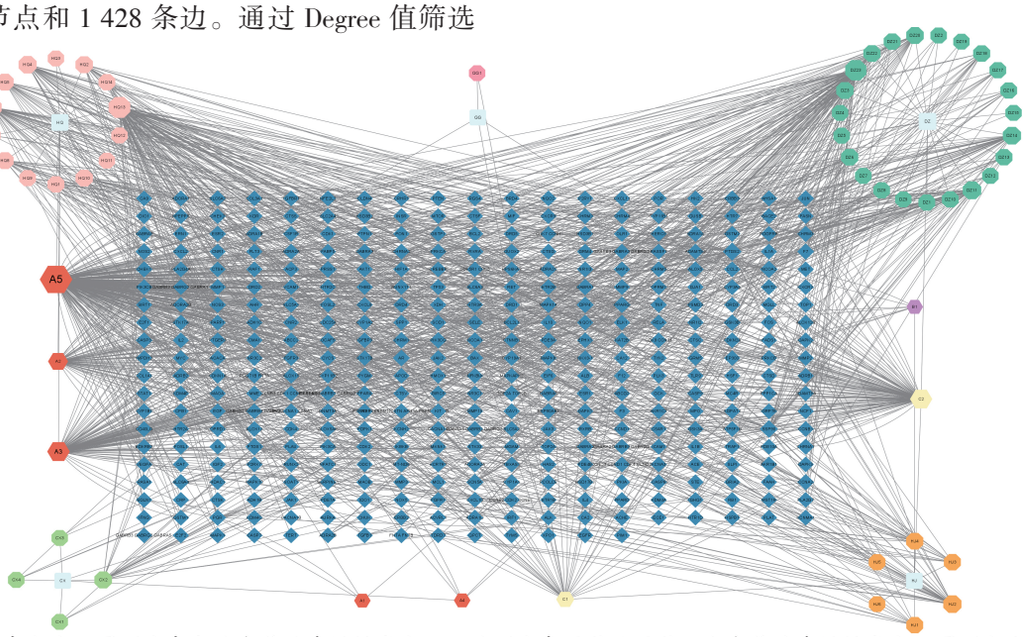
Herbs	Mol ID	Active compounds	OB	DL
黄芪	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
黄芪	MOL000398	isoflavanone	109.99	0.30
黄芪	MOL000417	Calycosin	47.75	0.24
黄芪	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
黄芪	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3，4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
黄芪	MOL000433	FA	68.96	0.71
黄芪	MOL000439	isomucronulatol-7，2′-di-*O*-glucosiole	49.28	0.62
黄芪	MOL000442	1，7-Dihydroxy-3，9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
黄芪	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
葛根	MOL000392	formononetin	69.67	0.21
葛根	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
葛根	MOL002959	3′-Methoxydaidzein	48.57	0.24
葛根	MOL003629	Daidzein-4，7-diglucoside	47.27	0.67
川芎	MOL001494	Mandenol	42.00	0.19
川芎	MOL002135	Myricanone	40.6	0.51
川芎	MOL002140	Perlolyrine	65.95	0.27
川芎	MOL002157	wallichilide	42.31	0.71
川芎	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
川芎	MOL000433	FA	68.96	0.71
黄精	MOL001792	DFV	32.76	0.18
黄精	MOL002714	baicalein	33.52	0.21
黄精	MOL002959	3′-Methoxydaidzein	48.57	0.24
黄精	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
黄精	MOL000359	sitosterol	36.91	0.75
黄精	MOL003889	methylprotodioscin_qt	35.12	0.86
黄精	MOL004941	(2R)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.12	0.18
黄精	MOL000546	diosgenin	80.88	0.81
黄精	MOL006331	4′，5-Dihydroxyflavone	48.55	0.19
黄精	MOL009760	sibiricoside A_qt	35.26	0.86
黄精	MOL009763	(+)-Syringaresinol-*O*-beta-*D*-glucoside	43.35	0.77
黄精	MOL009766	zhonghualiaoine 1	34.72	0.78
杜仲	MOL002058	40957-99-1	57.20	0.62
杜仲	MOL000211	Mairin	55.38	0.78
杜仲	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
杜仲	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
杜仲	MOL004367	olivil	62.23	0.41
杜仲	MOL000443	Erythraline	49.18	0.55
杜仲	MOL005922	Acanthoside B	43.35	0.77
杜仲	MOL006709	AIDS214634	92.43	0.55
杜仲	MOL007059	3-beta-Hydroxymethyllenetanshiquinone	32.16	0.41
杜仲	MOL000073	ent-Epicatechin	48.96	0.24
杜仲	MOL007563	Yangambin	57.53	0.81
杜仲	MOL009007	Eucommin A	30.51	0.85

续表 1　尿 C 方药物有效成分

Herbs	Mol ID	Active compounds	OB	DL
杜仲	MOL009009	(+)-medioresinol	87.19	0.62
杜仲	MOL009015	(-)-Tabernemontanine	58.67	0.61
杜仲	MOL009027	Cyclopamine	55.42	0.82
杜仲	MOL009029	Dehydrodiconiferyl alcohol 4，gamma′-di-O-beta-D-glucopyanoside_qt	51.44	0.40
杜仲	MOL009030	Dehydrodieugenol	30.10	0.24
杜仲	MOL009031	Cinchonan-9-al，6′-methoxy-，(9R)-	68.22	0.40
杜仲	MOL009038	GBGB	45.58	0.83
杜仲	MOL009042	Helenalin	77.01	0.19
杜仲	MOL009047	(+)-Eudesmin	33.29	0.62
杜仲	MOL009053	4- [(2S，3R) - 5- [(E) - 3- hydroxyprop- 1- enyl]- 7- methoxy- 3- methylol- 2， 3-dihydrobenzofuran-2-yl]-2-methoxy-phenol	50.76	0.39
杜仲	MOL009055	hirsutin_qt	49.81	0.37
杜仲	MOL009057	liriodendrin_qt	53.14	0.80
杜仲	MOL000098	quercetin	46.43	0.28
杜仲	MOL002773	beta-carotene	37.18	0.58
杜仲	MOL008240	(E) - 3-[4-[(1R， 2R) - 2- hydroxy- 2- (4- hydroxy- 3- methoxy- phenyl) - 1- methylol-ethoxy]-3-methoxy-phenyl]acrolein	56.32	0.36
杜仲	MOL011604	Syringetin	36.82	0.37

注：DL：类药性；OB：生物口服利用度

2.2　复方-成分-靶点网络构建　见图 1。为了更好地观察药物、成分和靶点之间的关系，使用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“复方-成分-靶点”网络图(图 1)，更直观地显示它们之间的关系。该网络图包含 436 个节点和 1 428 条边。通过 Degree 值筛选出了其中前 11 个关键成分，分别是槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、异黄烷酮、脱氢二芷醇、类黄酮植物化学物、7-*O*-甲基异粘核醇、(-)-塔伯尼蒙坦宁、辛可南-9-醛，6′-甲氧基-(9R)-、黄芩素。



注：蓝色菱形代表靶点，圆形代表各味中药独有活性成分，六边形代表两种及两种以上中药共有活性成分，图形大小按照 degree 值大小进行变化，degree 值越大图形越大。药物代码对应如下：HQ-黄芪，CX-川芎，GG-葛根，HJ-黄精，DZ-杜仲，A1-黄芪&杜仲，A2-黄芪&葛根，A3-黄芪&杜仲，A4-黄芪&川芎，A5-黄芪&杜仲，B1-川芎&黄精，C1-葛根&黄精，C2-葛根&黄精&杜仲

图 1　尿 C 方复方药物-成分-靶点网络图

2.3 IgAN相关目标预测结果 以“IgA肾病”为关键检索词，检索OMIM、DrugBank、GeneCards、DisGeNET数据库。GeneCards数据库一共找到1 593个靶基因，排除Relevance score小于2.4的基因，得到796个靶基因；DrugBank数据库筛选出30个靶基因；OMIM数据库筛选出21个靶基因；DisGeNET数据库筛选出17个靶基因。合并4个数据库筛选得到的靶基因并进行重复数据删除，获得了823个靶基因。

2.4 药物-疾病交集靶点 见表2、图2。对383个药物活性成分靶点和823个IgAN相关靶点进行维恩分析。两者相交后，得到111个药物-疾病交叉靶点，绘制维恩图。

表2 药物与疾病交集靶点

Gene name	Protein name	Degree	Gene name	Protein name	Degree
ALB	Albumin	89	SERPINE1	Plasminogen activator inhibitor 1	53
IL6	Interleukin-6	88	MAPK14	Mitogen-activated protein kinase 14	53
TNF	Tumor necrosis factor	88	SIRT1	NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-1	52
AKT1	RAC-alpha serine/threonine-protein kinase	87	ACE	Angiotensin-converting enzyme	51
TP53	Cellular tumor antigen p53	86	CRP	C-reactive protein	51
VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	83	KDR	Vascular endothelial growth factor receptor 2	50
IL1B	Interleukin-1 beta	81	TGFB1	28 proprotein	50
CASP3	Caspase-3	77	PPARA	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha	50
EGFR	Epidermal growth factor receptor	75	MAPK8	Mitogen-activated protein kinase 8	50
JUN	Transcription factor Jun	74	CASP8	Caspase-8	49
CTNNB1	Catenin beta-1	72	MAPK1	Mitogen-activated protein kinase 1	48
MMP9	Matrix metalloproteinase-9	72	MPO	Myeloperoxidase	46
HIF1A	Hypoxia-inducible factor 1-alpha	71	IL1A	Interleukin-1 alpha	45
MYC	Myc proto-oncogene protein	71	MMP1	Interstitial collagenase	44
PTGS2	Prostaglandin G/H synthase 2	71	SPP1	Osteopontin	44
CCL2	C-C motif chemokine 2	70	MMP3	Stromelysin-1	44
CXCL8	Interleukin-8	70	SELE	E-selectin	44
IL10	Interleukin-10	69	CXCL10	C-X-C motif chemokine 10	43
PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	67	PIK3CA	Phosphatidylinositol 4, 5- bisphosphate 3- kinase catalytic subunit alpha isoform	42
EGF	Pro-epidermal growth factor	65	NR3C1	Glucocorticoid receptor	39
ESR1	Estrogen receptor	64	CD40LG	CD40 ligand	39
CCND1	G1/S-specific cyclin-D1	63	NFE2L2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	39
IL4	Interleukin-4	63	NOS2	Nitric oxide synthase, inducible	38
ICAM1	Intercellular adhesion molecule 1	62	JAK1	Tyrosine-protein kinase JAK1	37
IFNG	Interferon gamma	61	CDK2	Cyclin-dependent kinase 2	35
PTEN	Phosphatidylinositol 3, 4, 5- trisphosphate 3- phosphatase and dual-specificity protein phosphatase PTEN	60	PARP1	Poly	34
IL2	Interleukin-2	59	PLAU	Urokinase-type plasminogen activator	34
CAT	Catalase	58	CREBBP	CREB-binding protein	33
HMOX1	Heme oxygenase 1	57	MET	Hepatocyte growth factor receptor	32
MMP2	72 kDa type IV collagenase	57	F3	Tissue factor	32
MTOR	Serine/threonine-protein kinase mTOR	56	CDK4	Cyclin-dependent kinase 4	32
NOS3	Nitric oxide synthase, endothelial	56	TLR9	Toll-like receptor 9	32
VCAM1	Vascular cell adhesion protein 1	55	PRKCA	Protein kinase C alpha type	30
STAT1	Signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta	55	SOD1	Superoxide dismutase	29

续表 2　药物与疾病交集靶点

Gene name	Protein name	Degree	Gene name	Protein name	Degree
FLT3	Receptor-type tyrosine-protein kinase FLT3	29	PIK3CG	Phosphatidylinositol 4, 5- bisphosphate 3- kinase catalytic subunit gamma isoform	16
DPP4	Dipeptidyl peptidase 4	28	AURKA	Aurora kinase A	15
CXCR2	C-X-C chemokine receptor type 2	28	DNMT3A	DNA	15
RB1	Retinoblastoma-associated protein	27	FGFR3	Fibroblast growth factor receptor 3	15
MIF	Macrophage migration inhibitory factor	26	TYMS	Thymidylate synthase	14
NQO1	NAD	26	CMA1	Chymase	14
JAK3	Tyrosine-protein kinase JAK3	26	CYP1B1	Cytochrome P450 1B1	13
BAX	Apoptosis regulator BAX	25	ADRB2	Beta-2 adrenergic receptor	13
THBD	Thrombomodulin	24	C5AR1	C5a anaphylatoxin chemotactic receptor 1	12
CYP1A1	Cytochrome P450 1A1	23	XDH	Xanthine dehydrogenase/oxidase	10
CYP3A4	Cytochrome P450 3A4	23	DRD2	D	7
PLAT	Tissue-type plasminogen activator	23	PLA2G7	Platelet-activating factor acetylhydrolase	6
CXCR3	C-X-C chemokine receptor type 3	23	SLC5A2	Sodium/glucose cotransporter 2	5
TGFBR1	TGF-beta receptor type-1	22	MST1R	Macrophage-stimulating protein receptor	5
E2F1	Transcription factor E2F1	20	PRSS1	Serine protease 1	5
ABCG2	Broad substrate specificity ATP- binding cassette transporter ABCG2	19	F12	Coagulation factor XII	4
AKR1B1	Aldo-keto reductase family 1 member B1	19	BDKRB2	B2 bradykinin receptor	4
BCL2	Apoptosis regulator Bcl-2	18	HTR2A	5-hydroxytryptamine receptor 2A	4
TYK2	Non-receptor tyrosine-protein kinase TYK2	18	CYP11B2	Cytochrome P450 11B2, mitochondrial	3
PON1	Serum paraoxonase/arylesterase 1	17	ADH1B	All-trans-retinol dehydrogenase	3
GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1	17	TBXAS1	Thromboxane-A synthase	1
RXRA	Retinoic acid receptor RXR-alpha	17			

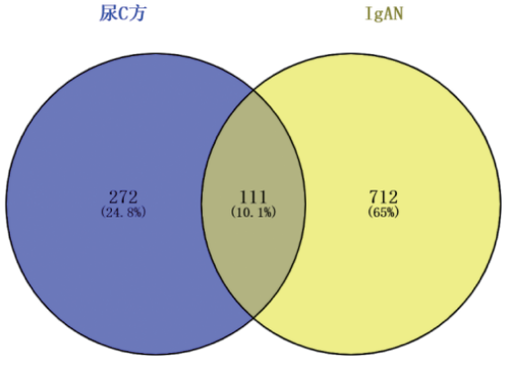


图 2　尿 C 方有效成分靶点与 IgAN 靶点的 Venn 图

2.5　蛋白质-蛋白质相互作用（PPI）网络构建和可视化分析　见表 3、图 3。共将 111 个常见药物疾病靶点输入 STRING 数据库进行检索，构建蛋白质相互作用的 PPI 网络。网络有 111 个节点和 431 条边，平均节点度数为 7.77，平均局部聚类系数为 0.463，PPI 富集 *P* 值为 < 1.0e-16。STRING 分析的结果被导入到 Cytoscape 3.9.1 软件中，并使用网络分析仪进行拓扑分析。节点大小与度值呈正相关，节点度数越大，节点在网络中具有的生物学功能越多。根据 Degree 值大小，连接最多的十个靶点是 JUN、TP53、AKT1、MAPK1、IL6、PIK3CA、TNF、CREBBP、MAPK14、CTNNB1。

2.6　GO 富集分析　见图 4、图 5。利用 DAVID 数据库和 R 语言对 111 个交集靶点进行 GO 富集分析，共获得 706 个生物过程(BP)、63 个细胞成分(CC)和 123 个分子功能(MF)。图 4 和图 5 展示了 GO 功能富集分析在生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)方面最显著的 10 个结果。可以发现 BP 涉及到细胞凋亡、炎症反应基因表达等；CC 涉及到细胞外空间、分子复合物等；MF 涉及到相同蛋白质结合、酶结合、酶活性等。

2.7　KEGG 富集分析　见图 6、图 7。111 种蛋白质进一步产生了 161 条 KEGG 通路，前 20 条关键信号通路如图 6、图 7 所示，KEGG 通路富集分析确定了这些与机制相关的通路。结果显示尿 C 方治疗 IgAN 主要与糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、流

表 3　PPI 网络中 Degree 值前 20 的靶点

Gene	Degree	Closeness	Betweenness	Gene	Degree	Closeness	Betweenness
JUN	32	0.530 726	0.104 236	IL4	17	0.448 113	0.013 805
TP53	31	0.502 646	0.147 470	JAK1	16	0.456 731	0.019 108
AKT1	28	0.500 000	0.107 493	VEGFA	16	0.463 415	0.051 112
MAPK1	26	0.494 792	0.050 836	IL2	15	0.456 731	0.008 483
IL6	25	0.477 387	0.077 291	EGFR	15	0.452 381	0.071 611
PIK3CA	24	0.492 228	0.069 957	PIK3CA	29	0.507 937	0.069 600
TNF	24	0.489 691	0.079 070	MAPK1	29	0.507 937	0.083 455
CREBBP	23	0.508 021	0.077 409	TP53	27	0.482 412	0.065 479
MAPK14	22	0.494 792	0.030 385	CTNNB1	26	0.507 937	0.089 257
CTNNB1	20	0.475 000	0.056 892	IL6	26	0.497 409	0.076 953
MYC	20	0.479 798	0.039 033	TNF	23	0.487 310	0.073 177
STAT1	18	0.492 228	0.035 108	MAPK14	22	0.482 412	0.027 799
IL10	18	0.437 788	0.042 368	FOS	22	0.487 310	0.033 491
ESR1	17	0.467 980	0.013 249	CAV1	21	0.484 848	0.067 525
IL1B	17	0.458 937	0.025 088	EGFR	21	0.482 412	0.046 358

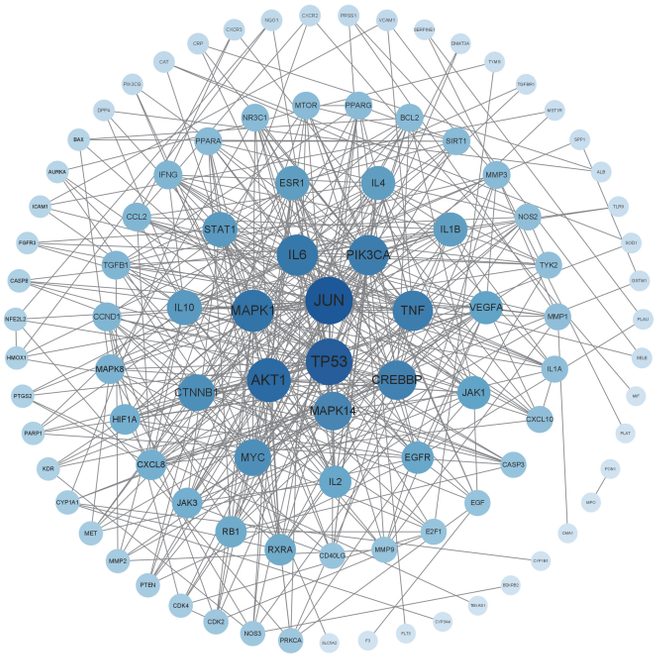


图 3　尿 C 方与 IgAN 交集靶点的 PPI 网络

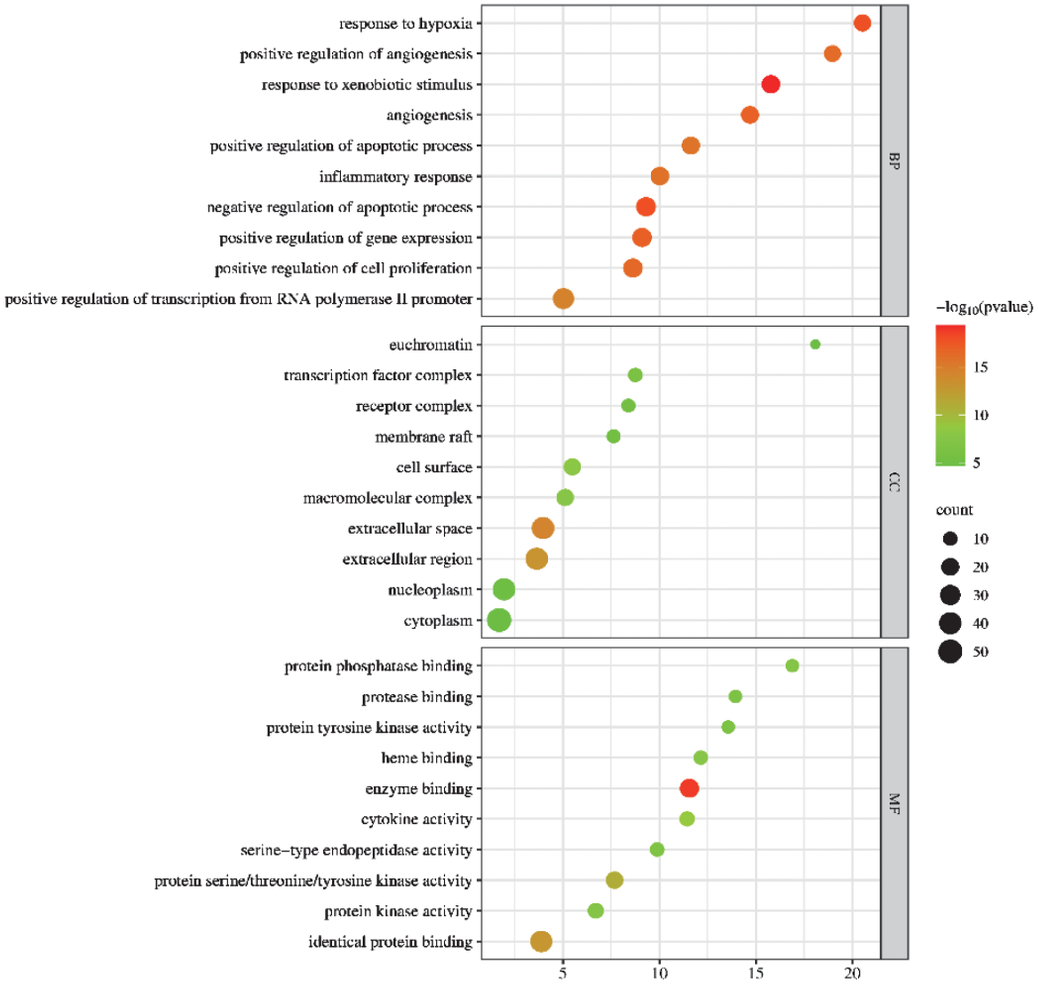


图 4　尿 C 方治疗 IgAN 的 GO 富集分析气泡图

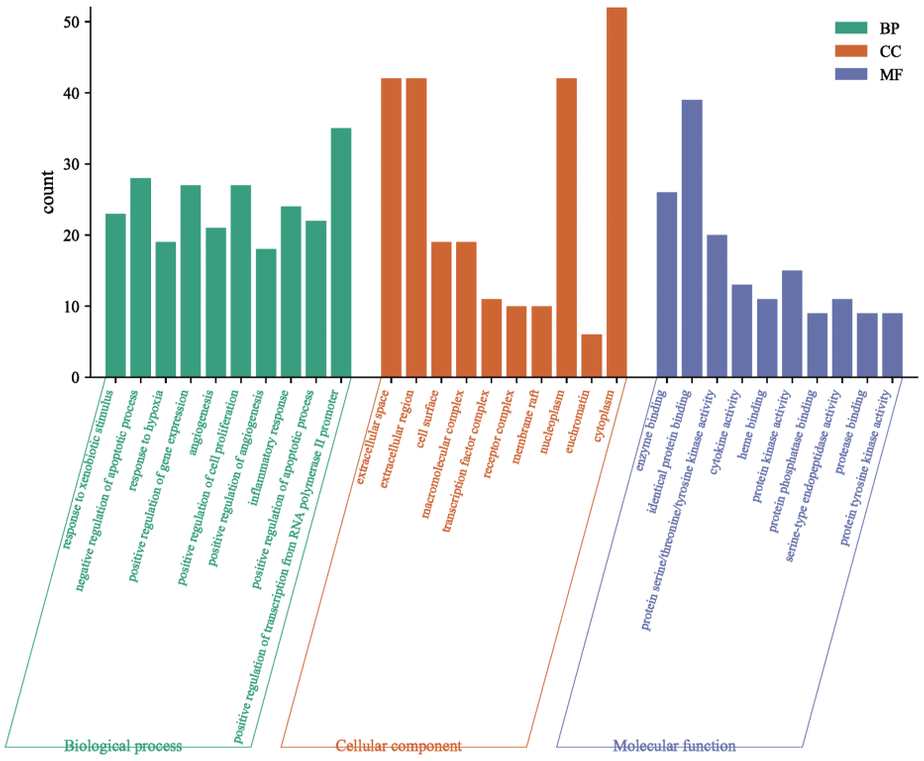


图 5　尿 C 方治疗 IgAN 的 GO 富集分析条形图

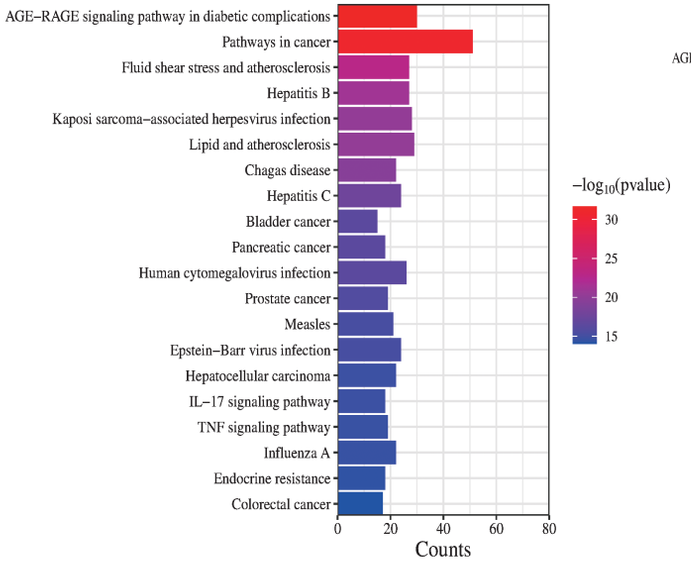


图 6　尿 C 方治疗 IgAN 的 KEGG 富集分析条形图

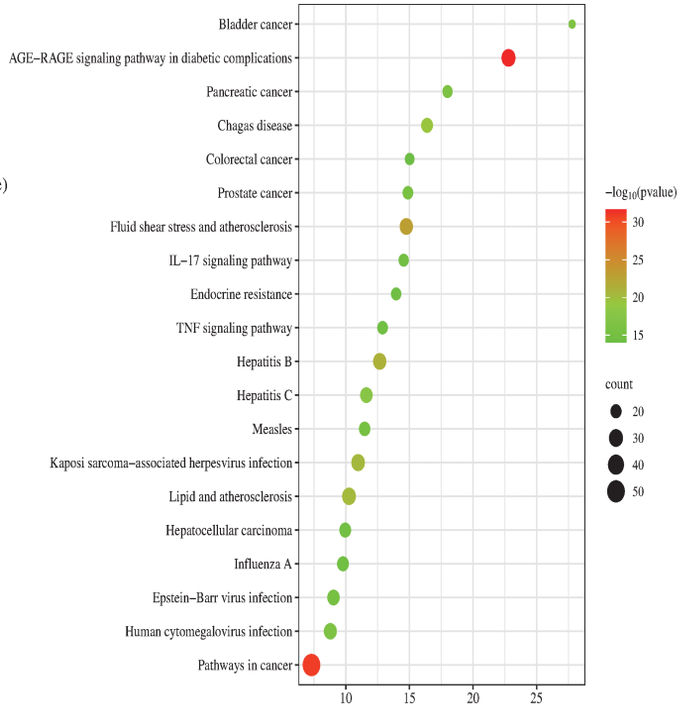


图 7　尿 C 方治疗 IgAN 的 KEGG 富集分析气泡图

体剪切应力和动脉粥样硬化、脂质和动脉粥样硬化、IL-17 信号通路、TNF 信号通路等密切相关。

2.8　分子对接　见表 3、图 8、图 9。分子对接是通过几何和能量匹配使分子与目标相互识别的过程。可以根据结合能值评估化合物和靶蛋白的结合强度和活性。负结合能值表明配体和受体可以自发结合。结合能值＜−5 kcal/mol 表明良好的结合活性，结合能值越低，对接效果越好。组分与蛋白质结合的区域称为活性口袋，IgAN 主要靶点与尿 C 方主要有效分子对接的活性口袋定位见表 3。表中 x、y、z 代

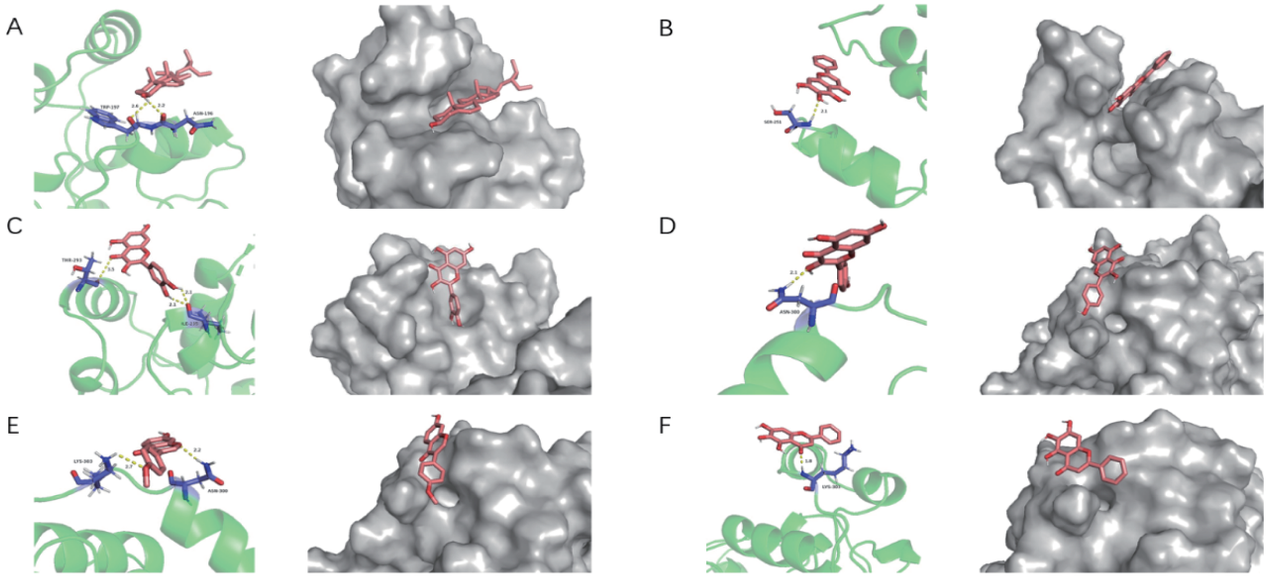
表 IgAN 主要靶点与尿 C 方主要有效分子对接的活性口袋定位参数，分子对接的过程涉及分子之间的空间形状互补和能量匹配，通过分子对接确定复合物中两个分子正确的相对位置和取向，研究两个分子的构象。在 TCMNPAS 中进行分子对接亲和力分析，PPI 网络排名前 15 的靶蛋白与尿 C 方中前 10 的有效活性成分分子对接结果表明槲皮素、山柰酚、β-谷甾醇、类黄酮植物化学物、黄芩素与 MAPK1、MAPK14 结合较好，具有良好的结合亲和力。

表 3　尿 C 方主要有效活性成分与 IgAN 主要靶点分子对接活性口袋定位

	PDB	x	y	z	sizex	sizey	sizez	method
MAPK1	4W4W	3.78	-18.39	-32.16	22.26	30.60	20.82	FromFpocket
MAPK14	2FST	-5.45	5.11	2.35	14.93	25.34	19.85	FromFpocket



图 8　PPI 前 15 个靶点与排名前 10 的有效活性成分分子对接亲和力结果



A. 2FST 与 beta-sitosterol 对接；B. 2FST 与 baicalein 对接；C. 4W4W 与 quercetin 对接；D. 4W4W 与 kaempferol 对接；E. 4W4W 与 formononetin 对接；F. 4W4W 与 baicalein 对接

图 9　分子对接结果可视化

3　讨论

IgAN 其特征在于肾脏系膜区域的 IgA、C3 或 IgA 沉积[1,19]。根据牛津分类模型，其他病理类型的 IgAN 特征包括系膜细胞增殖(M)、肾小球节段性硬

化症(S)、毛细血管增生性病变、间质纤维化/肾小管萎缩(T)和新月体(C)的存在[20]。目前对 IgAN 的治疗还是以优化支持治疗为基础，支持治疗包括优化生活方式、血压管理、肾素-血管紧张素-醛固酮系统阻断、评估并干预心血管事件风险[21]。对于肾功能迅速恶化的新月体 IgAN 患者，可能需要口服皮质类固醇和环磷酰胺进行治疗[22]。

中药通常含有多种生物活性物质，具有多分子多靶点的优点，还可以根据患者的具体情况改变相容性，从而达到不同的治疗效果。这些特性使中药在治疗 IgAN 方面具有巨大潜力。在 IgAN 的临床治疗中，中药的活性成分通常作用于多种信号通路，主要具有抗氧化、抗炎和抗纤维化作用，以及调节自噬[23]。

本研究应用网络药理学和分子对接技术，探讨尿 C 方治疗 IgAN 的作用机制。通过“复方-活性成分-靶点”网络构建，分析得出前 11 个关键成分是槲皮素、山奈酚、β-谷甾醇、异黄烷酮、脱氢二芷醇、类黄酮植物化学物、甲基异粘核醇、(-)-塔伯尼蒙坦宁、辛可南-9-醛，6′-甲氧基-(9R)-、黄芩素。槲皮素是一种广泛分布的生物活性类黄酮化合物，具有抑制多种疾病纤维化的潜力，研究表明[24]槲皮素减少了纤维化、炎症、氧化应激和细胞凋亡的面积，显著改善了 HK-2 细胞中 TGF-β1 诱导的 EMT，增加双调蛋白(AREG)的表达。此外，槲皮素能抑制 AREG 与 EGFR 受体的结合，从而进一步影响其他下游途径，通过抑制 AREG/EGFR 信号的激活来缓解体外和体内纤维化。在另外的一项研究中[25]，证实了槲皮素通过调节阻塞性肾病中的 NLRP3 来改善肾小管间质转化和肾纤维化。Sheng H 等[26]研究表明山奈酚(KPF)在肾病的发展中具有促进自噬和抑制细胞凋亡的特性。山奈酚通过抑制 NF-κB p65 和反式激活 Nrf2 介导的抗炎和抗氧化作用来预防氯化镉($CdCl_2$)诱导的肾病[27]。除此之外山奈酚还有抗炎和抗动脉粥样硬化作用[28-29]。已有的临床和实验研究报道，β-谷甾醇(24-乙基胆甾烯-3-醇)是一种天然存在的植物甾醇，具有抗高血脂和抗高血糖特性[30]。类黄酮类化合物主要通过调节氧化应激反应和炎症反应来发挥治疗作用[31]。黄芩素与槲皮素均能减轻相关的氧化应激反应。由免疫复合物沉积引起的炎症反应发生在整个 IgAN 过程中，各种炎症损伤引起防御反应，引发体内氧化应激，氧化应激引起细胞死亡可以激活炎症细胞[32-33]，肾损伤越来越严重最后导致肾衰竭。因此，抑制炎症反应和氧化应激是治疗 IgAN 的重要因素。尿 C 方中排在前几的有效活性成分大部分均有抗炎和抗氧化作用。

通过 PPI 网络分析，JUN、TP53、AKT1、MAPK1、IL-6、PIK3CA、TNF、CREBBP、MAPK14 和 CTNNB1 可能是尿 C 方治疗 IgAN 的关键靶点。这些蛋白质被认为是核心蛋白质。而这些蛋白主要参与炎症、脂质和动脉粥样硬化、癌症的通路、氧化应激、细胞凋亡等。

MAPK14 调节 AGE-RAGE 和癌症信号通路[34]。AKT1 参与炎症反应，有研究表示 AKT1 缺失，会增加肾小管细胞凋亡和肾脏缺血再灌注损伤(IRI)期间的炎症反应，加剧肾脏损伤[35-36]。IL-6 和 TNF 具有免疫调节和促炎作用[37]。IL-1、IL-6 和 TNF-α 可诱导 Th22 细胞分化和增殖，这些产生 Th22 的 TGF-β 细胞被系膜细胞分泌的 CCL20、CCL22 和 CCL27 募集，促成肾纤维化[38]。结合 KEGG 富集分析结果，发现这些核心蛋白质大多富集在 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路、脂质和动脉粥样硬化、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路等等。TNF 信号通路主要在于 TNF-α，是 IgAN 患者足细胞凋亡与蛋白尿相关的狭缝膈肌(SD)紊乱的主要参与者[39-40]，在 IgAN 的发病机制中起作用。AGE-RAGE 信号通路与自身免疫性疾病、炎症和组织损伤有关，晚期糖基化终末产物(AGE)抑制可减少肾病的炎症反应和氧化病变[41]。免疫复合物沉积、系膜细胞的活化和足细胞形态变化导致肾脏炎症反应[38]。尿 C 方可以通过调控免疫相关细胞和炎症介质从而表现出对 IgAN 的治疗作用。因此，尿 C 方在治疗 IgAN 方面具有巨大潜力。

为了更进一步验证核心蛋白能否与小分子稳定结合，笔者对前几个与 IgAN 密切相关的关键靶点蛋白进行了分子对接研究。结果表明，MAPK1 和 MAPK14 具有良好的结合尿 C 方活性化合物的能力。

近些年来，网络药理学在中医领域得到了广泛的应用，从综合和系统的角度体现了中药复方对 IgAN 治疗的多靶点、多途径、协同作用。本研究基于网络分析和分子对接技术，以尿 C 方为研究对象，分析其化学成分、核心靶点和关键药效学成分的结合能力。初步探讨尿 C 方治疗 IgAN 可能产生的

物质基础和作用机制。

[参考文献]

[1] WYATT R J, JULIAN B A. IgA nephropathy[J]. The New England Journal of Medicine, 2013, 368(25): 2402-2414.

[2] SCHENA F P. A retrospective analysis of the natural history of primary IgA nephropathy worldwide[J]. The American Journal of Medicine, 1990, 89(2): 209-215.

[3] SCHENA F P, NISTOR I. Epidemiology of IgA nephropathy: a global perspective[J]. Semin Nephrol, 2018, 38(5)435-442.

[4] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines[J]. Journal of Cheminformatics, 2014, 6: 13.

[5] LIU H, WANG J, ZHOU W, et al. Systems approaches and polypharmacology for drug discovery from herbal medicines: an example using licorice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2013, 146(3): 773-793.

[6] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(6): 6964-6982.

[7] UniProt Consortium. Reorganizing the protein space at the Universal Protein Resource (UniProt) [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(Database issue): D71-D75.

[8] KIM S, CHEN J, CHENG T, et al. PubChem 2023 update[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D1373-D1380.

[9] UniProt Consortium. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D523-D531.

[10] DAINA A, MICHIELIN O, ZOETE V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug- likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 42717.

[11] STELZER G, ROSEN N, PLASCHKES I, et al. The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses[J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2016, 54: 1.30.1-1.30.33.

[12] PIÑERO J, SAÜCH J, SANZ F, et al. The DisGeNET cytoscape app: Exploring and visualizing disease genomics data[J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2021, 19: 2960-2967.

[13] AMBERGER J S, HAMOSH A. Searching Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM): A Knowledgebase of Human Genes and Genetic Phenotypes[J]. Current Protocols in Bioinformatics, 2017, 58: 1.2.1-1.2.12.

[14] 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 Research, 2019, 47(D1): D607-D613.

[15] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Research, 2003, 13(11): 2498-2504.

[16] HUANG D A W, SHERMAN B T, LEMPICKI R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nature Protocols, 2009, 4(1): 44-57.

[17] SHERMAN B T, HAO M, QIU J, et al. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update)[J]. Nucleic Acids Research, 2022, 50(W1): W216-W221.

[18] FORLI S, HUEY R, PIQUE M E, et al. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite[J]. Nature Protocols, 2016, 11(5): 905-919.

[19] KIRYLUK K, NOVAK J. The genetics and immunobiology of IgA nephropathy [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2014, 124(6): 2325-2332.

[20] ROBERTS I S, COOK H T, TROYANOV S, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility[J]. Kidney International, 2009, 76(5): 546-556.

[21] SCHIMPF J, KRONBICHLER A, WINDPESSL M, et al. Diagnosis and Treatment of IgA Nephropathy- 2023[J]. Wiener Klinische Wochenschrift, 2023, 135(Suppl 5): 621-627.

[22] MORIYAMA T, HONDA K, NITTA K, et al. The effectiveness of steroid therapy for patients with advanced IgA nephropathy and impaired renal function[J]. Clinical and Experimental Nephrology, 2004, 8(3): 237-242.

[23] MA S, ZHAO M, CHANG M, et al. Effects and mechanisms of Chinese herbal medicine on IgA nephropathy[J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and phytopharmacology, 2023, 117: 154913.

[24] WANG Q, WANG F, LI X, et al. Quercetin inhibits the amphiregulin/EGFR signaling-mediated renal tubular epithelial-mesenchymal transition and renal fibrosis in obstructive nephropathy[J]. Phytotherapy Research: PTR, 2023, 37(1): 111-123.

[25] MA Z, WANG F, WANG H, et al. Quercetin ameliorates renal tubulointerstitial transformation and renal fibrosis by regulating NLRP3 in obstructive nephropathy[J]. Minerva Med, 2023, 114(4): 530-532.

[26] SHENG H, ZHANG D, ZHANG J, et al. Kaempferol attenuated diabetic nephropathy by reducing apoptosis and promoting autophagy through AMPK/mTOR pathways[J]. Frontiers in Medicine, 2022, 9: 986825.

[27] ALSHEHRI A S, EL-KOTT A F, EL-KENAWY A E, et al. The ameliorative effect of kaempferol against $CdCl_2$- mediated renal damage entails activation of Nrf2 and inhibition of NF-κB[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2022, 29(38): 57591-57602.

[28] ASHRAFIZADEH M, TAVAKOL S, AHMADI Z, et al. Therapeutic effects of kaempferol affecting autophagy and endoplasmic reticulum stress[J]. Phytotherapy Research: PTR, 2020, 34(5): 911-

923.

[29] CALDERÓN-MONTAÑO J M, BURGOS-MORÓN E, PÉREZ-GUERRERO C, et al. A review on the dietary flavonoid kaempferol[J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2011, 11(4): 298-344.

[30] PONNULAKSHMI R, SHYAMALADEVI B, VIJAYALAKSHMI P, et al. In silico and in vivo analysis to identify the antidiabetic activity of beta sitosterol in adipose tissue of high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic experimental rats[J]. Toxicology Mechanisms and Methods, 2019, 29(4): 276-290.

[31] HU Q, QU C, XIAO X, et al. Flavonoids on diabetic nephropathy: advances and therapeutic opportunities[J]. Chinese Medicine, 2021, 16(1): 74.

[32] HUSSAIN T, TAN B, YIN Y, et al. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us?[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, 2016: 7432797.

[33] TAKAHATA A, ARAI S, HIRAMOTO E, et al. Crucial Role of AIM/CD5L in the Development of Glomerular Inflammation in IgA Nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2020, 31(9): 2013-2024.

[34] DAN Y, RADIC N, GAY M, et al. Characterization of p38α Signaling Networks in Cancer Cells Using Quantitative Proteomics and Phosphoproteomics[J]. Molecular & Cellular Proteomics: MCP, 2023, 22(4): 100527.

[35] KIM I Y, PARK Y K, SONG S H, et al. Akt1 is involved in tubular apoptosis and inflammatory response during renal ischemia-reperfusion injury[J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(12): 9511-9520.

[36] TIAN J, WANG Y, GUO H, et al. The Akt/mTOR/p70S6K pathway is activated in IgA nephropathy and rapamycin may represent a viable treatment option[J]. Experimental and Molecular Pathology, 2015, 99(3): 435-440.

[37] YI H, ZHANG Y, YANG X, et al. Hepatitis B Core Antigen Impairs the Polarization While Promoting the Production of Inflammatory Cytokines of M2 Macrophages via the TLR2 Pathway[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 535.

[38] ZHANG H, DENG Z, WANG Y. Molecular insight in intrarenal inflammation affecting four main types of cells in nephrons in IgA nephropathy[J]. Frontiers in Medicine, 2023, 10: 1128393.

[39] GAN L, ZHOU Q, LI X, et al. Intrinsic renal cells induce lymphocytosis of Th22 cells from IgA nephropathy patients through B7-CTLA-4 and CCL-CCR pathways[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2018, 441(1-2): 191-199.

[40] LAI K N, LEUNG J C, CHAN L Y, et al. Podocyte injury induced by mesangial-derived cytokines in IgA nephropathy[J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(1): 62-72.

[41] WU J, LIU B, LIANG C, et al. Zhen-wu-tang attenuates cationic bovine serum albumin-induced inflammatory response in membranous glomerulonephritis rat through inhibiting AGEs/RAGE/NF-κB pathway activation[J]. International Immunopharmacology, 2016, 33: 33-41.

（责任编辑：郑锋玲）