

# 基于网络药理学、分子对接及大鼠实验的黄芪-冬虫夏草药对治疗 IgA 肾病作用机制研究

傅奕<sup>1,2</sup>, 陈帮明<sup>1</sup>, 李鑫<sup>2,3,4\*</sup>, 付义<sup>1</sup>, 伍宏泽<sup>1</sup>, 刘永芳<sup>1</sup>

<sup>1</sup>江西省中医肾病临床医学研究中心九江市中医院, 九江 332000;

<sup>2</sup>湖南中医药大学; <sup>3</sup>湖南中医药大学中医诊断学湖南省重点实验室;

<sup>4</sup>湖南中医药大学中医心肺病证辨证与药膳食疗湖南省重点实验室, 长沙 410208

**摘要:**通过网络药理学筛选黄芪-冬虫夏草治疗 IgA 肾病(IgA nephropathy, IgAN)的作用靶点和相关信号通路,明确其作用机制,并进行实验验证。应用 TCMSp、BATMAN-TCM 数据库结合文献挖掘获取黄芪-冬虫夏草的活性成分和作用靶点;通过 GeneCards、OMIM 数据库获取慢性 IgAN 的疾病靶点;筛选出与黄芪-冬虫夏草共同的靶点,进而利用 Venny 2.1 绘制共同靶点韦恩图;利用 STRING 构建共同靶点互作网络(PPI);应用 Cytoscape 3.7.1 软件构建成黄芪-冬虫夏草活性成分-靶点交集的网络;通过 R 语言软件对共同靶点进行 GO 分析和慢性 IgA 肾病作用靶点的 KEGG 分析,筛选出潜在通路并分析其作用机制。运用分子对接技术验证黄芪-冬虫夏草活性成分与关键靶点的结合效能。取 IgA 肾病造模大鼠(分空白组、模型组和黄芪-冬虫夏草中剂量组)分别治疗 21 天。取肾脏组织,采用酶联免疫法检测各组大鼠肾组织中 VEGFA 含量。筛选出黄芪-冬虫夏草中生物活性成分 5 个,作用于 37 个 IgAN 的共同靶点,核心靶点为 VEGFA、HIF1A、NOS3、CASP3,主要涉及类固醇结合、细胞凋亡过程的半胱氨酸型内肽酶活性、雌激素受体结合、胆固醇结合等生物过程,主要富集在 Lipid and atherosclerosis 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、Fluid shear stress and atherosclerosis 通路、PI3K-Akt 信号通路等信号通路。分子显示主要成分和关键靶点之间具有较好的结合效能。相对于模型组,黄芪-冬虫夏草中剂量组 VEGFA 含量显著降低( $P < 0.05$ )。黄芪-冬虫夏草药对可能作用于 VEGFA、HIF1A、NOS3、CASP3 等关键靶点,通过抑制纤维化等与 IgA 肾病疾病相关的信号通路实现对 IgA 肾病的治疗作用。

**关键词:**网络药理学;分子对接;大鼠实验;黄芪-冬虫夏草;IgA 肾病;作用机制

中图分类号:R256.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)9-1573-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.9.015

## The mechanism of Astragali Radix-Cordyceps on the treatment of IgA nephropathy based on network pharmacology, molecular docking and rat experiments

FU Yi<sup>1,2</sup>, CHEN Bang-ming<sup>1</sup>, LI Xin<sup>2,3,4\*</sup>, FU Yi<sup>1</sup>, WU Hong-ze<sup>1</sup>, LIU Yong-fang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jiujiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangxi Provincial Traditional Chinese Medicine

Nephropathy Clinical Research Center, Jiujiang 332000, China; <sup>2</sup>Hunan University of Traditional Chinese Medicine;

<sup>3</sup>Hunan Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Diagnostics, Hunan University of Traditional Chinese Medicine;

<sup>4</sup>Hunan Provincial Key Laboratory of TCM Cardiopulmonary Disease Syndrome Differentiation and Medicinal Diet Therapy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

**Abstract:** To screen the targets and related signaling pathways of Astragali Radix-Cordyceps in the treatment of IgA nephropathy (IgAN) by network pharmacology, to clarify its mechanism of action, and to verify it experimentally. TCMSp and BATMAN-TCM databases combined with literature mining were used to obtain the active components and targets of Astragali Ra-

收稿日期:2021-12-21 接受日期:2022-06-07

基金项目:国家自然科学基金委员会地区科学基金(82060839);江西省卫生健康委科技计划(20204305);江西省中医药科研计划(2019A395)

\* 通信作者 E-mail:17707021828@163.com

dix-Cordyceps; the disease targets of chronic IgAN were obtained through GeneCards and OMIM databases; Venny 2.1 was used to draw a Venn diagram of common targets; STRING was used to build a common target interaction network (PPI); Cytoscape 3.7.1 software was used to build an interaction network of Astragali Radix-Cordyceps pills-target; through R language software GO analysis of common targets and KEGG analysis of chronic IgA nephropathy targets were performed to screen out potential pathways and their mechanisms of action were analyzed. Molecular docking technology was used to verify the binding efficacy of the active components of Astragali Radix-Cordyceps and key targets. IgA nephropathy model rats (model group and Astragali Radix-Cordyceps dose group with high, medium and low doses) were taken for 21 days, respectively, and the kidney tissue was collected to detect the expression of VEGFA protein in the kidney tissue of the rats in each group by Western blot. Five bioactive components were screened out from Astragali Radix-Cordyceps, which acted on 37 common targets of IgAN. The core targets were VEGFA, HIF1A, NOS3, and CASP3, which mainly involved cysteine-type steroid and apoptosis, endopeptidase activity, estrogen receptor binding, cholesterol binding and other biological processes are mainly enriched in lipid and atherosclerosis signaling pathway, AGE-RAGE signaling pathway, fluid shear stress and atherosclerosis pathway, PI3K-Akt signaling pathway and other signaling pathways. The molecules showed good binding potency between the main components and key targets. Compared with model group, the expression of VEGFA in the high and low dose groups of Astragali Radix-Cordyceps decreased ( $P < 0.05$ ), and there was no significant difference between the high-dose group and the middle-dose group ( $P > 0.05$ ). Astragali Radix-Cordyceps may act on key targets such as VEGFA, HIF1A, NOS3, and CASP3, and achieve therapeutic effects on IgA nephropathy through fibrosis and other signaling pathways.

**Key words:** network pharmacology; molecular docking; rat experiment; Astragali Radix-Cordyceps; IgA nephropathy; mechanism of action

IgA 肾病 (IgA nephropathy, IgAN) 是一种自身免疫性疾病, 以免疫复合物 IgA 沉积在肾小球系膜区为特征, 常伴内皮增生和足细胞损伤。在我国发病率高, 约占原发性肾小球肾损害的 32% ~ 54%, 约 40% 患者将在病程 20 年左右进入终末期肾病<sup>[1,2]</sup>。目前治疗主要是控制血压、降尿蛋白、激素及免疫抑制剂等, 虽然可延缓疾病进展, 但相关药物不良反应也限制了疗效<sup>[3]</sup>。因此, 积极探索 IgAN 的理想治疗药物, 保护肾脏功能, 已成为亟待解决的临床问题。

中医药治疗 IgAN 历史悠久, 可提高疗效、保护肾功能<sup>[4]</sup>, 但目前的研究角度尚单一, 未能系统论证中医药治疗 IgAN 的机制。陈帮明教授为江西省中医肾病临床医学研究中心学科带头人, 省级名中医, 集采众家之长, 认为正虚伏邪扰肾为本病病机<sup>[5]</sup>。针对正虚, 擅用黄芪-冬虫夏草药对补益肺脾肾。黄芪甘温, 培补肾气、健脾消肿, 具有调节免疫、降低尿蛋白、保护肾功能等作用, 可通过上调肝细胞生长因子 (HGF) 和下调转化生长因子- $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) 而抑制肾纤维化, 提高 IgAN 外周血 B 淋巴细胞和降低糖基化水平<sup>[6,7]</sup>。冬虫夏草味甘性平, 补益肺肾, 可抑制 VEGF 及 IgA 系膜细胞增生, 修复肾脏损伤<sup>[8,9]</sup>; 现代研究证实两药均有调节免疫、抑制系膜增生的功效, 联用可协同增效。故本文基于网络方法的药物作用机制发现策略, 旨在从系统角度和分

子水平发现研究付义主任黄芪-冬虫夏草药对的作用机制, 与中医学整体观念和辨证论治原则具有异曲同工之妙, 因此, 运用网络药理学技术可预测黄芪-冬虫夏草药对治疗 IgAN 的多成分-多靶点-多疾病的整合机制, 同时为将来的实验验证提供方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

黄芪-虫草药对由黄芪 20g、冬虫夏草 10g 组成, 中药饮片均购于江西中医药大学附属九江市中医院中药房。本院制剂室根据人临床等效剂量水煎浓缩为 0.72 g/mL, 置于无菌棕色瓶, 4 °C 冰箱保存备用。牛血清白蛋白 (BSA, 美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号: 20200823); 脂多糖 (LPS, 美国 Sigma-Aldrich 公司, 批号: 20200815); 四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司, 批号: 20200705); VEGFA (上海泛柯实业有限公司, 批号 20211205)。

选取 SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只进行药物血清制备, 体质量 180 ~ 220g, 购于湖北省实验动物研究中心, 动物生产许可证号: SCXK(鄂)2020-0014。饲养于九江学院附属医院动物房, 温度 21 ~ 25 °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 每日定时喂养, 实验动物伦理批号: LL20220304011。

### 1.2 黄芪-冬虫夏草主要化学成分收集及筛选

应用 TCMSp 数据库 (<http://lsp.nwu.edu.cn/IgAN/tcmsp.php>) 及 BATMAN-TCM 数据库 (<http://www.batman-tcm.com/>)

bionet.ncpsb.org/batman-tcm/)检索所有活性成分。以口服生物利用度(oral bioavailability, OB)  $\geq 30\%$ 、类药性(drug-likeness, DL)  $\geq 0.18$  为限制条件进行筛选,得到黄芪-冬虫夏草生物活性成分。另外对未入选数据库,但文献报道有生物活性的化学成分也纳入候选,建立药物-化学成分数据集。

### 1.3 成分潜在靶点收集

应用 TCMSP 及 BATMAN-TCM 数据库检索黄芪-冬虫夏草活性成分的靶基因,通过 Cytoscape 3.7.2 (<https://cytoscape.org/>) 构建活性成分-靶点互作网络。

### 1.4 IgAN 疾病靶点筛选

设置检索词为“IgAN”,通过 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 及 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 进行检索,筛选得到 IgAN 疾病靶点,并应用 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 筛选出人源靶点并进行标准化,获得 Swiss-Prot ID。

### 1.5 黄芪-冬虫夏草活性成分与 IgAN 的共同靶点筛选及 PPI 网络构建

明确 IgAN 相关靶点与黄芪-冬虫夏草潜在靶点之间的相互作用,应用 R 语言 (<https://www.r-project.org/>) 软件及 Perl 语言程序将疾病靶点与药物靶点进行交集。应用 STRING (<https://string-db.org/>) 插件构建共同靶点互作网络 (protein-protein interaction, PPI)。应用 count.R 插件获得共同蛋白靶点出现的频次。

### 1.6 活性成分-IgAN-靶点互作网络构建

应用 Cytoscape 3.7.2 软件中 merge 功能构建活性成分-IgAN-靶点互作网络。网络图中“node”代表活性成分和靶点,“edge”代表活性成分-IgAN-靶点之间的相互关系。查阅文献,基于构建的网络探讨黄芪-冬虫夏草治疗 IgAN 的潜在机制。

### 1.7 GO 生物功能分析和 KEGG 通路富集

应用 R 语言中 Cluster Profiler GO.R 插件及 Perl 语言对活性成分与 IgAN 共同靶点进行 GO 分析。应用 Cluster Profiler KEGG.R 插件进行 KEGG 通路分析。根据富集因子值分析核心通路富集程度,探究黄芪-冬虫夏草治疗 IgAN 的可能的生物功能及信号通路机制。

### 1.8 分子对接

采用 AutoDock vina 软件对 PPI 网络中最高 VEGFA 与黄芪-冬虫夏草 5 个主要成分进行分

子对接。从 RCSB PDB 蛋白质结构数据库和 PubChem 数据库中分别获得靶点蛋白的三维结构和主要成分的化学结构,采用 AutoDock Tools 对上述蛋白受体和配体进行常规处理,再用其插件 Autogrid 得到对接活性位点,进行分子对接,得到结合能 (affinity)。

### 1.9 分组及给药

实验大鼠随机分为空白组和模型组,模型组大鼠按改良的联合免疫诱导法 BSA + LPS + CCl<sub>4</sub> 建立模型。具体方法:BSA,加蒸馏水配制成 100 g/L 浓度,按 600 mg/kg 隔日灌胃 1 次,持续 12 周;CCl<sub>4</sub> + 蓖麻油,每只 0.1 mL + 0.3 mL,每周首日颈部皮下注射 1 次,持续 12 周;LPS 按 0.05 mg/只的量,于第 6 周和第 8 周首日尾静脉各注射 1 次。空白组则采用同一时间、等体积的蒸馏水灌胃,蓖麻油 (0.5 mL) 皮下注射以及尾静脉注射<sup>[10]</sup>。12 周后,模型组大鼠肾脏病理免疫荧光提示肾小球 IgA 沉积<sup>[10]</sup>。造模成功大鼠随机分为模型组和黄芪-冬虫夏草药对组,空白组、模型组按 10 mL/kg 给予蒸馏水灌胃;药对组黄芪和虫草配伍后用含 0.1% 羧甲基纤维素钠的蒸馏水配制成生药量为 1.27 g/mL 的溶液备用 (根据黄芪与虫草 (2:1) 的剂量 (黄芪 20 g, 虫草 10g),换算为动物给药剂量配置)。每日 1 次,持续 21 日。

### 1.10 标本检测

给药第 21 天后分别收集大鼠 24 h 尿液,记录尿量,并送医院检验科检测尿蛋白含量。治疗结束后次日,安乐死大鼠,迅速暴露并分离出肾脏 (在冰台上操作),从肾门处剪下肾脏并快速剥离肾包膜,组织匀浆。送医院检验科,采用酶联免疫法按说明书测定肾组织 VEGFA 含量。

### 1.11 统计学处理

所有研究数据均采用 SPSS 25.0 软件包进行统计学处理,实验指标采用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,计量资料采用正态性和方差齐性检验,满足正态性和方差齐性,采用单因素方差分析 (ANOVA) 多组间的差异比较。不满足方差齐性,采用非参数法进行检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 黄芪-冬虫夏草药物有效成分挖掘

利用 TCMSP 数据库对黄芪-冬虫夏草药对现有的成分进行挖掘,限定 OB  $\geq 30\%$  和 DL  $\geq 0.18$  进行选取,去除重复成分后获得 27 个有效成分 (见表 1)。

表 1 黄芪-虫草药对活性成分

Table 1 Chemical components of Astragali Radix-Cordyceps

MOL ID	分子名称 Molecule name	生物利用度 OB(%)	类药性 DL
MOL001439	花生四烯酸 Arachidonic acid	45.57	0.2
MOL001645	乙酸亚油酸酯 Linoleyl acetate	42.1	0.2
MOL000358	$\beta$ 谷甾醇 $\beta$ -Sitosterol	36.91	0.75
MOL011169	过氧麦角甾醇 Peroxyergosterol	44.39	0.82
MOL008998	谷草甾醇 Cerevisterol	39.52	0.77
MOL008999	棕榈酸胆固醇酯 Cholesteryl palmitate	31.05	0.45
MOL000953	胆固醇 Cholesterol	37.87	0.68
MOL000211	梅林 Mairin	55.38	0.78
MOL000239	雅拉诺 Jaranol	50.83	0.29
MOL000296	蛇床子素 Hederagenin	36.91	0.75
MOL000033	(3S,8S,9S,10R,13R,14S,17R)-10,13-Dimethyl-17-[(2R,5S)-5-propan-2-yl]octan-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
MOL000354	异鼠李素 Isorhamnetin	49.6	0.31
MOL000371	3,9-二-O-甲基尼索林 3,9-Di-O-Methylmissolin	53.74	0.48
MOL000374	5'-Hydroxyiso-muronulatol-2',5'-di-O-glucoside	41.72	0.69
MOL000378	7-O-甲基异木糖醇 7-O-Methylisomucronulatol	74.69	0.3
MOL000379	9,10-Dimethoxypterocarpan-3-O- $\beta$ -D-glucoside	36.74	0.92
MOL000380	(6aR,11aR)-9,10-Dimethoxy-6a,11a-dihydro-6H-benzofurano[3,2-c]chromen-3-ol	64.26	0.42
MOL000387	联苯酯 Bifendate	31.1	0.67
MOL000392	芒柄花素 Formononetin	69.67	0.21
MOL000398	异黄酮 Isoflavanone	109.99	0.3
MOL000417	花萼蛋白 Calycosin	47.75	0.24
MOL000422	山奈酚 Kaempferol	41.88	0.24
MOL000433	叶酸 Folic acid	68.96	0.71
MOL000438	(3R)-3-(2-Hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl) chroman-7-ol	67.67	0.26
MOL000439	isomucronulatol-7,2'-di-O-glucosiole	49.28	0.62
MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯 1,7-Dihydroxy-3,9-dimethoxy pterocarpene	39.05	0.48
MOL000098	槲皮素 Quercetin	46.43	0.28

## 2.2 黄芪-冬虫夏草的活性成分的收集和筛选

获得 27 个生物活性成分,其作用靶点共 109 个(不含重复),其中排名靠前的主要成分有花生四烯酸、 $\beta$ -谷甾醇、槲皮素。对应成分与作用靶点,发现单个活性成分可作用多个靶点,多个活性成分也可共同作用单个靶点,证实黄芪-冬虫夏草是以多靶点、多途径来发挥整体作用。

## 2.3 IgAN 的靶点筛选

利用 GeneCards、OMIM 数据库挖掘得到 IgAN 的疾病治疗靶点,设置 Relevance score  $\geq 3.6$  并删去

重复靶点,共得到 604 个 IgAN 的疾病治疗靶点。

## 2.4 共同靶点筛选及互作网络构建

将 604 个 IgAN 治疗靶点与药物活性成分作用靶点应用 R 语言软件及 Perl 语言程序筛选出共同靶点共 37 个;应用 STRING 数据平台输入 37 个共同靶点,在“high confidence:0.9”的模式下构建互作网络(PPI)(见图 1)。应用 count. R 插件统计出现频次前 10 的蛋白靶点,出现频次较高的有 VEGFA、HIF1A、NOS3、CASP3 等(见表 2),可作为黄芪-冬虫夏草治疗 IgAN 的潜在靶点。

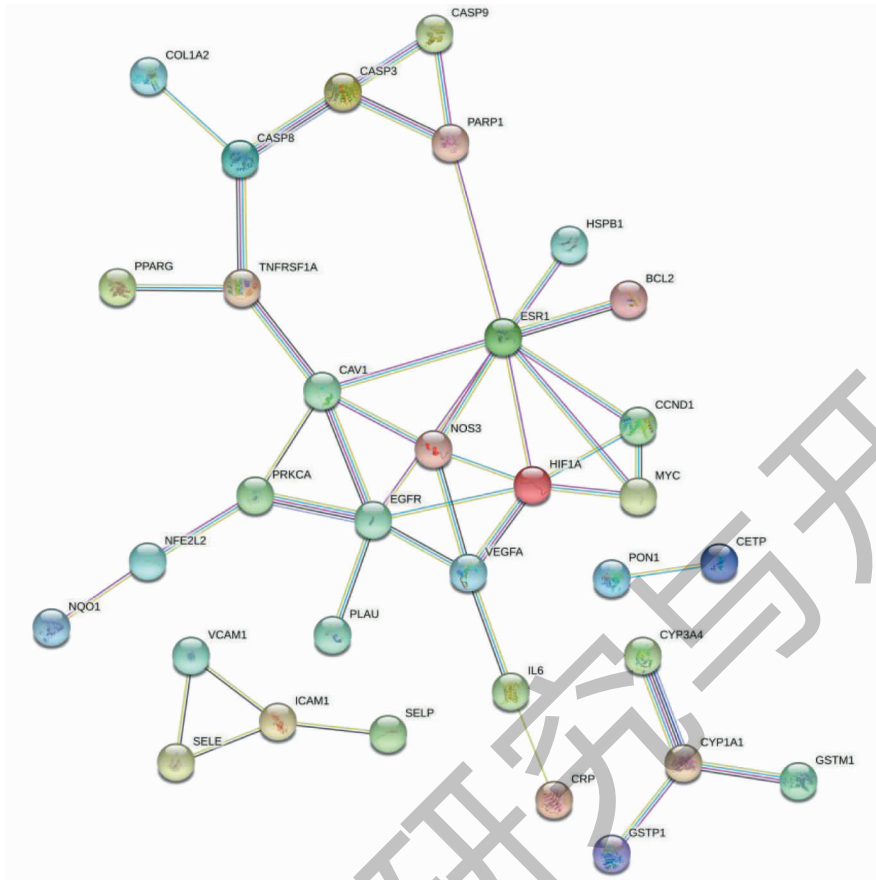


图 1 共同靶点交互网络(PPI)

Fig. 1 Common target interaction network (PPI)

表 2 常见蛋白质靶点频率

Table 2 Frequency of common protein targets

序号 No.	关键靶点 Key target	度值 Degree
1	VEGFA	18
2	EGFR	12
3	HIF1A	12
4	NOS3	10
5	CAV1	8
6	ESR1	8
7	CASP3	6
8	CASP8	6
9	IL6	6
10	ICAM1	6

## 2.5 生物分子网络构建

采用 Cytoscape 3.7.2 软件在活性成分-靶点互

作网络图中,共获得 42 个节点(靶点 37 个,活性成分 5 个)(见图 2)。其中三角形代表黄芪-冬虫夏草活性成分,椭圆形代表黄芪-冬虫夏草活性成分与 IgAN 的共同靶点。

## 2.6 黄芪-冬虫夏草治疗 IgAN 的生物功能(GO)分析及核心通路筛选

并利用 R 语言软件对以上共同靶点进行 GO 功能分析得到的柱状图(见图 3),其中的生物过程主要涉及类固醇结合、细胞凋亡过程的半胱氨酸型内肽酶活性、雌激素受体结合、胆固醇结合等。这体现了黄芪-冬虫夏草可能通过调控多个复杂的生物过程来治疗 IgAN。图 4 显示了黄芪-冬虫夏草作用靶点的 KEGG 通路富集分析结果。通过分析,37 个共同靶点主要分布脂质与动脉粥样硬化信号通路、AGE-RAGE 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路、PI3K-Akt 信号通路等多条信号通路中,这些表明黄芪-冬虫夏草通过作用于多条信号通路来协调治疗 IgAN。

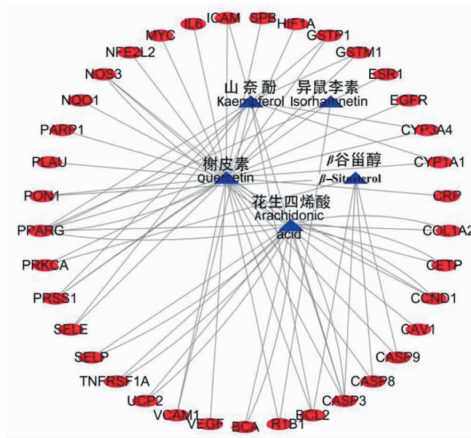


图 2 活性成分-靶点互作网络

Fig. 2 Interaction network of compounds-targets

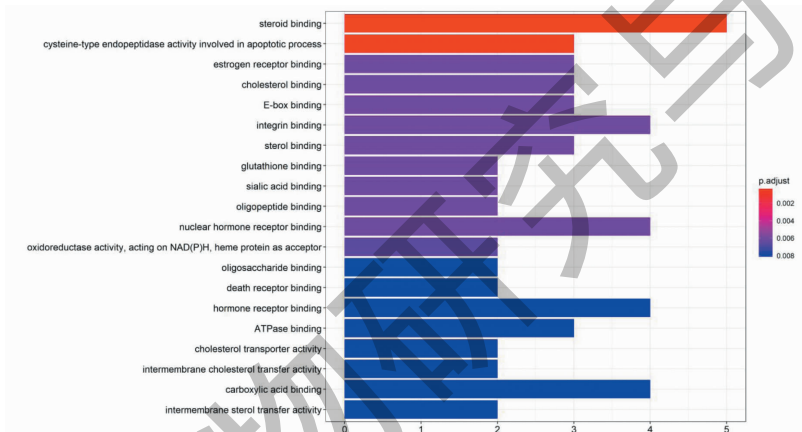


图 3 GO 功能分析直方图

Fig. 3 Histogram of GO analysis

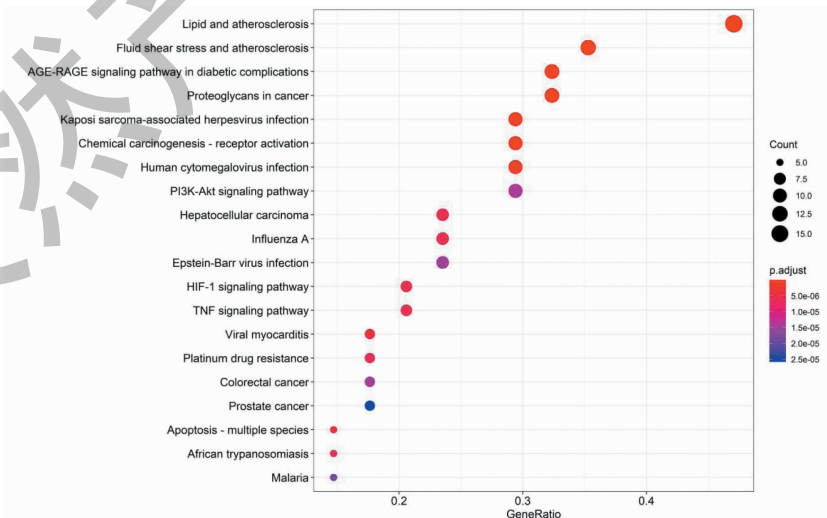


图 4 KEGG 富集分析图

Fig. 4 Results of KEGG pathway analysis

## 2.7 分子对接

采用 AutoDock vina 软件将主要成分与关键靶点 VEGFA 进行分子对接后,得到结合能数值分别为  $\beta$ -谷甾醇-26.6 kJ/mol、异鼠李素-22.02 kJ/mol、山奈酚-19.34 kJ/mol、槲皮素-18.21 kJ/mol、花生四

烯酸-12.89 kJ/mol,结合能越小对接越好。表中主要成分都能与靶点蛋白较好地结合。其中  $\beta$ -谷甾醇与 VEGFA 结合性最好(见图 5)。结果表明,这 5 种主要成分与蛋白靶点相互作用,结合后呈现稳定状态。

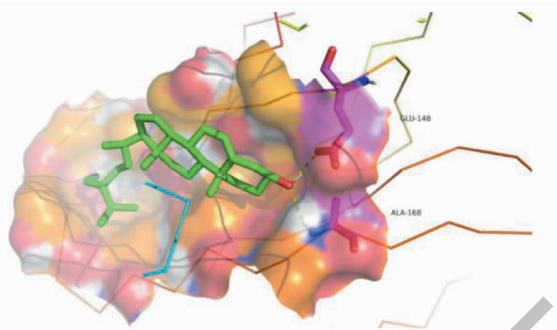


图 5  $\beta$ -谷甾醇与 VEGFA 的分子对接图

Fig. 5 Molecular docking diagram of  $\beta$ -sitosterol and VEGFA

## 2.8 黄芪-冬虫夏草对 IgAN 大鼠尿蛋白影响

模型组尿蛋白较空白组显著增加 ( $P < 0.05$ ),黄芪-冬虫夏草组尿蛋白较模型组显著降低 ( $P < 0.05$ ),结果见表 3。

表 3 尿蛋白定量

Table 3 Quantification of urine protein

组别 Group	例数 n	24 h 尿蛋白 UTP(mg/24 h)
空白组 Blank group	8	2.73 $\pm$ 0.35
模型组 Model group	8	23.6 $\pm$ 0.78 *
黄芪-冬虫夏草组 Astragali Radix- Cordyceps group	8	10.83 $\pm$ 0.74 <sup>#</sup>

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compared with blank group,\* $P < 0.05$ ; Compared with model group,<sup>#</sup> $P < 0.05$ .

## 2.9 黄芪-冬虫夏草对肾组织 VEGFA 含量的影响

与正常组比较,模型组 VEGFA 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ),给予黄芪-冬虫夏草治疗后,VEGFA 含量较模型组显著下降 ( $P < 0.05$ ),结果见表 4。

表 4 对肾组织 VEGFA 含量影响

Table 4 Effect on VEGFA content in renal tissue

组别 Group	例数 n	VEGFA (pg/mL)
空白组 Blank group	8	9.62 $\pm$ 0.08
模型组 Model group	8	23.13 $\pm$ 0.07 *
黄芪-冬虫夏草组 Astragali Radix- Cordyceps group	8	15.76 $\pm$ 0.06 <sup>#</sup>

注:与空白组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compared with blank group,\* $P < 0.05$ ; Compared with model group,<sup>#</sup> $P < 0.05$ .

## 3 讨论与结论

依据其临床特征,本病归属中医学尿血、尿浊、慢肾风等范畴。中医学认为本病多为脾肾亏虚为本,湿浊内蕴,日久成瘀为标;根据对文献挖掘证据表明,中药治疗 IgAN 以补益肺脾肾为主,活血化瘀贯穿始终<sup>[11]</sup>。陈帮明主任认为 IgAN 免疫复合物沉积属中医“微干血”,“瘀、浊”为其核心病机,黄芪-冬虫夏草药对不仅可补益肺脾肾,且可抑制肾纤维化、祛除肾中顽瘀,延缓肾功能进展<sup>[5,12]</sup>。

本研究筛选出 37 个生物活性成分,从活性成分-靶点互作网络构建结果中得知其关键活性成分是花生四烯酸、 $\beta$ -谷甾醇、异鼠李素、山奈酚、槲皮素。花生四烯酸是一种 n-6 必需脂肪酸,可调节人体免疫功能、抗血小板聚集、抗凝、抑制肾纤维化、保护足细胞<sup>[13,14]</sup>; $\beta$ -谷甾醇通过提高抗氧化酶的活性,如超氧化物歧化酶(SOD),谷胱甘肽(GSH)和过氧化氢酶(CAT)等,具有显著抗氧化作用,且可以降低肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )、IL-6 水平,抑制 TLR 受体信号转导发挥抑炎作用<sup>[15]</sup>。异鼠李素通过作用 TGF- $\beta$ 1/Smad3 和 TGF- $\beta$ 1/p38 MAPK 通路抑制细胞外基质形成而抑制纤维化<sup>[16]</sup>。山奈酚可通过抑制 ASK1/MAPK 通路,显著降低氧化应激和脂质过氧化<sup>[17]</sup>;通过 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制炎症因子释放<sup>[18]</sup>。槲皮素是一种黄酮类化合物,具有抗氧化、抑炎、降低代谢毒素、保护肾脏的作用<sup>[19]</sup>。综上,黄芪-冬虫夏草主要活性成分可能通过抗纤维化、抗氧化、调节免疫、抑制炎症等从而发挥治疗 IgAN 作

用。

基于黄芪-冬虫夏草活性成分-IgAN-靶点互作网络,发现了 VEGFA、HIF1A、NOS3、CASP3 等关键靶点。研究表明,VEGFA 是 VEGF 的亚型,可促进间质纤维化,在 IgAN 患者肾小球和肾小管上皮细胞中高表达,可破坏肾脏屏障,加重蛋白尿,可独立预测 IgAN 患者临床结局<sup>[20]</sup>。免疫复合物沉积系膜区,刺激内皮细胞分泌大量 VEGF,与受体结合后诱导血管新生,同时通过刺激氧化应激、炎症,进一步加重系膜增生,胞外基质增多,导致肾小球硬化<sup>[21]</sup>。HIF1A 可以通过在转录和转录后激活 Notch-1,从而促进肾纤维化<sup>[22]</sup>。NOS3 可减少 SOD 水平,发挥抗氧化、抑炎作用<sup>[23]</sup>。Caspase-3 是细胞凋亡过程中主要效应因子,介导肾脏炎症反应、纤维化形成的相关凋亡<sup>[24]</sup>。

结合 KEGG 数据库对信号通路注释分析发现,黄芪-冬虫夏草的生物有效成分可能通过作用于脂质与动脉粥样硬化信号通路、AGE-RAGE 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路、PI3K-Akt 信号通路等。脂质与动脉粥样硬化是肾脏疾病合并心血管风险的主要因素<sup>[25]</sup>。流体剪切应力与动脉粥样硬化通路是抑制炎症、血管舒张、抗动脉粥样硬化的主要途径<sup>[26]</sup>。AGE/RAGE 可促进炎症细胞因子释放和细胞外基质生成,导致肾小球肥大和肾小球硬化,亦可与胶原蛋白发生交联,而介导蛋白质沉积<sup>[27]</sup>。PI3K-Akt 信号通路可介导肾脏炎症和细胞凋亡<sup>[28]</sup>。

综上,本研究显示黄芪-冬虫夏草通过作用于 VEGFA、HIF1A、NOS3、CASP3 关键靶点及脂质与动脉粥样硬化信号通路、AGE-RAGE 信号通路、流体剪切应力与动脉粥样硬化通路、PI3K-Akt 信号通路等多条信号通路而抑制纤维化、抗炎、氧化应激等多个病理环节,从而发挥多环节、多靶点的整合调节效应。分子对接也确证上述成分和靶点之间有较强的结合活性。同时结合了 IgA 大鼠模型对有强烈结合活性 VEGFA 靶点进行验证,结果表明黄芪-冬虫夏草药对可以显著降低模型组大鼠尿蛋白、VEGFA 含量,证实黄芪-冬虫夏草可通过多分子靶点、多途径而延缓 IgA 肾病进程。

#### 参考文献

1 Rajasekaran A, Julian BA, Rizk DV. IgA nephropathy: an interesting autoimmune kidney disease [J]. Am J Med Sci,

2021, 361(2):176-194.

- 2 Lu JX, Wu YP, Shi JH. Meta analysis of randomized controlled trials of Astragali Radix in the treatment of IgA nephropathy [J]. Hubei J Tradit Chin Med (湖北中医杂志), 2019, 41(8):63-66.
- 3 Zhu KS, Zhang CX. Research status of pathogenesis of chronic uric acid nephropathy [J]. Chin J Diab (中国糖尿病杂志), 2017, 10:950-952.
- 4 Ding XH, Lv J, Zhang TS, et al. Meta analysis of clinical efficacy of traditional Chinese medicine in the treatment of IgA nephropathy [J]. J China Prescript Drug (中国处方药), 2020, 18(9):153-156.
- 5 Liu YF, Wang Y. Director Fu Yi's experience in treating IgA nephropathy [J]. Med Inform (医学信息), 2020, 33(21):155-156.
- 6 Ji L, Chen X, Zhong X, et al. Astragalus membranaceus up-regulate Cosmc expression and reverse IgA dys-glycosylation in IgA nephropathy [J]. BMC Complem Altern M, 2014, 14:195.
- 7 Yang L, Li AP, Zhang WN, et al. Research progress on pharmacological effects and clinical application of Astragalus membranaceus and Astragalus containing meridian prescriptions in the treatment of nephropathy [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49:3419-3424.
- 8 Lin CY, Ku FM, Kuo YC, et al. Inhibition of activated human mesangial cell proliferation by the natural product of *Cordyceps sinensis* (H1-A): an implication for treatment of IgA mesangial nephropathy [J]. J Lab Clin Med, 1999, 133(1):55-63.
- 9 Gao QY, Zhao K. Effect of Cordyceps on mitochondrial apoptosis pathway in renal cells of diabetes contrast nephropathy rats [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med (中国中医基础医学杂志), 2019, 25:1059-1062.
- 10 Fei M, Xiong PH, Zhou LX, et al. Comparison of two rat models of IgA nephropathy [J]. Jiangsu Med J (江苏医药), 2016, 42:1435-1438.
- 11 Bian HP, Zhang SR. Professor Zhang Shengrong's clinical experience of syndrome differentiation in the treatment of IgA nephropathy [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2018, 29:2765-2767.
- 12 Wu MD, Ma H, Zhao P, et al. Effects of *Astragalus membranaceus* and *Cordyceps sinensis* on IGF-1 and TGF-1 in the kidney of newborn rats after the obstruction of hydronephrosis was relieved  $\beta$ 1 expression [J]. Guizhou Med J (贵州医药), 2020, 44:1025-1029.
- 13 Huang N, Wang M, Peng J, et al. Role of arachidonic acid derived eicosanoids in intestinal innate immunity [J]. Crit Rev



- Food Sci Nutr,2021,61:2399-2410.
- 14 Turolo S, Edefonti A, Mazzocchi A, et al. Role of arachidonic acid and its metabolites in the biological and clinical manifestations of idiopathic nephrotic syndrome [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(11):5452.
  - 15 Yin Y, Liu X, Liu J, et al. Beta-sitosterol and its derivatives repress lipopolysaccharide/*d*-galactosamine-induced acute hepatic injury by inhibiting the oxidation and inflammation in mice [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2018, 28:1525-1533.
  - 16 Liu N, Feng J, Lu X, et al. Isorhamnetin inhibits liver fibrosis by reducing autophagy and inhibiting extracellular matrix formation via the TGF-1/Smad3 and TGF-1/p38MAPK pathways [J]. Mediators Inflamm, 2019, 2019:6175091.
  - 17 Liu C, Liu H, Lu C, et al. Kaempferol attenuates imiquimod-induced psoriatic skin inflammation in a mouse model [J]. Clin Exp Immunol, 2019, 198:403-415.
  - 18 Imran M, Rauf A, Shah ZA, et al. Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: a comprehensive review [J]. Phytother Res, 2019, 33:263-275.
  - 19 Muñoz-Reyes D, Morales AI, Prieto M. Transit and metabolic pathways of quercetin in tubular cells: involvement of its antioxidant properties in the kidney [J]. Antioxidants, 2021, 10(6):909.
  - 20 Feng S, Huang N, Xue M, et al. Association between urinary VEGFA and renal pathology of IgA nephropathy patients [J]. J Clin Lab Anal, 2021, 35(10):e23995.
  - 21 An LL, Guo DZ. Research progress on the relationship between PDGF, VEGF and receptor Flk-1 and IgA nephropathy [J]. Chin Med Hera (中国医药导报), 2019, 16(33):36-39.
  - 22 Zhao H, Han Y, Jiang N, et al. Effects of HIF-1 $\alpha$  on renal fibrosis in cisplatin-induced chronic kidney disease [J]. Clin Sci, 2021, 135:1273-1288.
  - 23 Kim EJ, Seo JB, Yu JS, et al. Anti-inflammatory effects of a polyphenol, catechin-7, 4'-O-digallate, from *Woodfordia uniflora* by regulating NF- $\kappa$ B signaling pathway in mouse macrophages [J]. Pharmaceutics, 2021, 13(3):408.
  - 24 Wang W, Liou TH, Lee WJ, et al. ESR1 gene and insulin resistance remission are associated with serum uric acid decline for severely obese patients undergoing bariatric surgery [J]. Surg Obes Relat Dis, 2014, 10(1):14-22.
  - 25 Poznyak A, Grechko AV, Poggio P, et al. The diabetes mellitus-atherosclerosis connection; the role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(5):1835.
  - 26 Boulanger CM, Amabile N, Guérin AP, et al. *In vivo* shear stress determines circulating levels of endothelial microparticles in end-stage renal disease [J]. Hypertension, 2007, 49:902-908.
  - 27 Wu XQ, Zhang DD, Wang YN, et al. AGE/RAGE in diabetic kidney disease and ageing kidney [J]. Free Radic Biol Med, 2021, 171:260-271.
  - 28 Hu W, Gao W, Miao J, et al. Alamandine, a derivative of angiotensin-(1-7), alleviates sepsis-associated renal inflammation and apoptosis by inhibiting the PI3K/Ak and MAPK pathways [J]. Peptides, 2021:170627.

(上接第 1564 页)

- 14 Wu J, Ye WH, Lu ZY, et al. Research on fingerprints and differences of different parts of *Ampelopsis grossedentata* [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2020, 32:1507-1514.
- 15 Feng ZY, Zhang Q, Ji L, et al. Study on HPLC fingerprints of different polar parts of *Gardeniae Fructus* kernels before and after processing licorice juice [J]. J Shenyang Pharm Univ (沈阳药科大学学报), 2022, 39:405-413.
- 16 Li Y, Zhang J, Xu FR, et al. Multiple attribute decision making analysis TOPSIS on quality evaluation study of *Panax notoginseng* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2017, 48:4764-4771.
- 17 Ma TX, Gu ZR, Xu AX, et al. Identification and comprehensive quality evaluation of *Cynomorium songaricum* in different producing areas based on OPLS combined with entropy weight TOPSIS method [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2020, 51:3284-3291.