

基于网络药理学探究黄柏治疗尿酸性肾病的分子机制

毛帆¹, 金丽霞^{2*}

¹黑龙江中医药大学研究生院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江中医药大学附属第四医院, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2024年10月8日; 录用日期: 2024年11月2日; 发布日期: 2024年11月11日

摘要

目的: 通过网络药理学方法研究黄柏治疗尿酸性肾病(uric acid nephropathy, UAN)的分子机制。方法: 借助中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)和Swiss Target Prediction获得黄柏的活性成分及对应靶点, 利用GeneCards数据库和在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)获取UAN的相关靶点。使用Venn2.1.0平台得到相应药物靶点与疾病靶点的交集并将其导入String数据库以构建蛋白相互作用网络, 然后将PPI网络导入Cytoscape3.9.1软件构建“药物-有效成分-靶点”, 筛选可能发挥治疗作用的核心靶点, 将交集靶点导入Metascape数据库进行基因本体(GO)富集分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析获知其潜在的作用机制, 并在微生信进行可视化处理。结果: 药物共筛选到20个有效成分并得到554个靶点。得到UAN的靶点共1540个, 其中交集靶点172个。PPI网络筛选出核心靶点33个。经GO分析和KEGG分析, 表明黄柏可能主要通过调控多条信号通路抑制尿酸的合成、降低肾脏中炎症因子表达的作用来对UAN起到治疗作用。结论: 本研究运用网络药理学的分析方法预测黄柏治疗UAN可能的活性成分、关键靶点及作用通路, 体现中药治疗疾病具有“多成分、多靶点、多途径”的特点, 为其药效物质基础和作用机制研究提供理论基础, 印证临床上运用黄柏治疗UAN的可行性。

关键词

黄柏, 尿酸性肾病, 靶点, 网络药理学, 作用机制

Exploring the Molecular Mechanism of *Phellodendron* in Treating Uric Acid Nephropathy Based on Network Pharmacology

Fan Mao¹, Lixia Jin^{2*}

¹Graduate School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang

*通讯作者。

文章引用: 毛帆, 金丽霞. 基于网络药理学探究黄柏治疗尿酸性肾病的分子机制[J]. 临床医学进展, 2024, 14(11): 705-714. DOI: 10.12677/acm.2024.14112935

Abstract

Objective: To investigate the molecular mechanism of *Phellodendron* in the treatment of uric acid nephropathy (UAN) by network pharmacology methods. **Methods:** The active components and corresponding targets of *Phellodendron* were obtained from the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) and Swiss Target Prediction. The targets of UAN were obtained from the GeneCards database and the Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) database. The intersection of drug targets and disease targets was obtained using the Venn2.0.1 platform and imported into the String database to construct a protein-protein interaction network, which was then imported into Cytoscape3.9.1 software to construct a “drug-active component-target” network. The core targets were screened, and the intersection targets were imported into Metascape database for gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis to reveal their potential mechanisms of action, which were then visualized in MicroHIS. **Results:** A total of 20 effective components were identified, and 554 targets were obtained. A total of 1540 targets of UAN were obtained, including 172 intersection targets. 33 core targets were selected from the PPI network. GO analysis and KEGG analysis showed that *Phellodendron* may mainly regulate multiple signaling pathways to inhibit the synthesis of uric acid and reduce the expression of inflammatory factors in the kidney to treat UAN. **Conclusion:** This study uses network pharmacology analysis methods to predict the active components, key targets, and action pathways of Huangbo in the treatment of UAN, reflecting the characteristics of traditional Chinese medicine in treating diseases, such as “multiple components, multiple targets, and multiple pathways”. It provides a theoretical basis for the study of the pharmacological effects and mechanisms of action of *Phellodendron*, and confirms the feasibility of clinically using *Phellodendron* to treat UAN.

Keywords

Phellodendron, Uric Acid Nephropathy, Target Point, Network Pharmacology, Action Mechanism

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

尿酸性肾病(uric acid nephropathy, UAN)又称高尿酸血症肾病,是由于人体嘌呤代谢紊乱而导致血尿酸异常升高至饱和状态,导致尿酸晶体沉积于远端小管或集合管管腔,引发肾小管及间质的炎性反应,导致肾脏血流灌注不足,从而引起肾脏损害的一组临床综合征[1][2]。其中包括急性尿酸性肾病、慢性尿酸性肾病及尿酸性肾结石[3]。临床上多表现为水肿、蛋白尿、高血压,有肾结石者表现为腰痛、血尿或尿频、尿急、尿痛和发热[4]。近年来随着对尿酸性肾病的研究,现代医学表明中医药对尿酸性肾病的临床疗效确切,应用前景广泛。其中单味中药对治疗尿酸性肾病的研究备受关注。

黄柏味苦,性寒,主归肾、膀胱二经,具有清热燥湿、泻火解毒、除骨蒸等功效[5]。据数据统计分析,黄柏在中药复方治疗 UAN 的支持度和选择度较高[6]。且研究发现黄柏对 UAN 大鼠有明显的治疗作用,可以降低血尿酸,减少尿酸盐在肾脏的沉积,并且可以抑制肾组织中 TNF- α 、COX-2 炎症因子的表

达, 从而减轻肾脏损害[7]。但目前对于黄柏治疗 UAN 的有效成分和作用机制的研究尚有不足, 通过网络药理学分析其有效成分、作用靶点及潜在的作用机制来探究黄柏对 UAN 的作用机制, 以期为临床和相关实验研究提供理论参考。

2. 研究方法

2.1. 黄柏有效成分及其靶点筛选

利用 TCMSP 数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>), 以 $OB \geq 30\%$ (口服生物利用度)和 $DL \geq 0.18$ (类药性)为筛选条件, 检索黄柏有效成分。根据各成分的 Pub Chem Cid 在 Pub Chem 数据库中进行检索, 获得候选化合物的 Canonical SMILES 编号, 若其无 Pub Chem Cid 则在 TCMSP 数据库中下载其分子图片利用结构计算站(<http://www.vcclab.org/web/alogps/>)计算其 SMILES 编号。在得到所有成分的 SMILES 编号后将其导入到 Swiss ADME 数据库(<http://www.swissadme.ch/index.php>), 筛选出胃肠道吸收为“High”, 类药性至少有一个“Yes”的有效成分。再将筛选到的成分的 SMILES 编号导入 Swiss Target Prediction 数据库中获取黄柏候选化合物的靶点, 并剔除掉未预测到靶点的化合物。最后根据靶点对应的 Uniprot 号对靶点进行去重和规范化处理。

2.2. UAN 靶点筛选

利用 OMIM 数据库和 GeneCards 数据库, 以“Uric acid nephropathy”、为关键词进行检索, 获得 UAN 的相关靶点。并根据靶点对应的 Uniprot 号对靶点进行去重和规范化处理。

2.3. 潜在靶点蛋白质-蛋白质互作网络的构建

利用 Venny2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)对 UAN 相关靶点与黄柏相关靶点进行交互映射, 获得交集靶点, 并将所得结果以 Venn 图的形式呈现。然后将交集靶点导入 String 数据库, 蛋白质种类设置为“homo sapiens”, 其他参数值保持默认, 得到黄柏治疗 UAN 潜在靶点的蛋白质-蛋白质互作网络。随后将其导入 Cytoscape3.9.1 并利用 Centiscape2.2 插件计算网络的 Degree 值、Betweenness 值、Closeness 值以获得该网络的核心靶点。

2.4. GO 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析

将交集靶点导入 Metascape 数据库进行分析, 设置物种为“homo sapiens”, $P \geq 0.01$, 然后依次进行“GOTERM_BP_DIRECT”、“GOTERM_CC_DIRECT”、“GOTERM_MF_DIRECT”GO 富集分析和 KEGG 信号通路富集分析, 以得到黄柏作用于 UAN 时的生物进程和关键信号通路, 并将结果按照 Pvalue 进行倒序排序, 分别以柱状图和气泡图的形式呈现。

3. 结果

3.1. 中药活性成分及药物靶点的筛选结果

根据筛选条件, 本研究共检索到黄柏活性成分共 23 个。另外, 基于靶点数据库剔除掉未预测到靶点的化合物共 3 个, 最终得到有效的活性成分共 20 个, 通过靶点数据库得到黄柏靶点 1403 个, 再根据 Uniprot 号进行标准化及去重后共得到 554 个靶点。

3.2. UAN 靶点检索结果

通过 Gencards、OMIM 数据库分别检索 UAN 的靶点, 其中 UAN 在 Gencards 数据库检索到 1359 个靶点、OMIM 数据库中检索到 200 个靶点, 将靶点合并及去重后得到 1540 个疾病靶点。将筛选后的黄柏

药物成分靶点与 UAN 靶点取交集, 其中交集靶点 172 个, 绘制 Venn 图, 见图 1。再将数据导入 Cytoscape3.9.1 软件, 构建药物成分-交集靶点网络, 其中红色信标形代表药物, 绿色菱形代表黄柏的有效成分, 紫色圆形代表药物作用疾病的靶点。其中节点越大, 代表药物成分和靶点越重要, 见图 2。根据度值大小, 筛选出药物中对疾病作用的重要化合物, 见表 1。

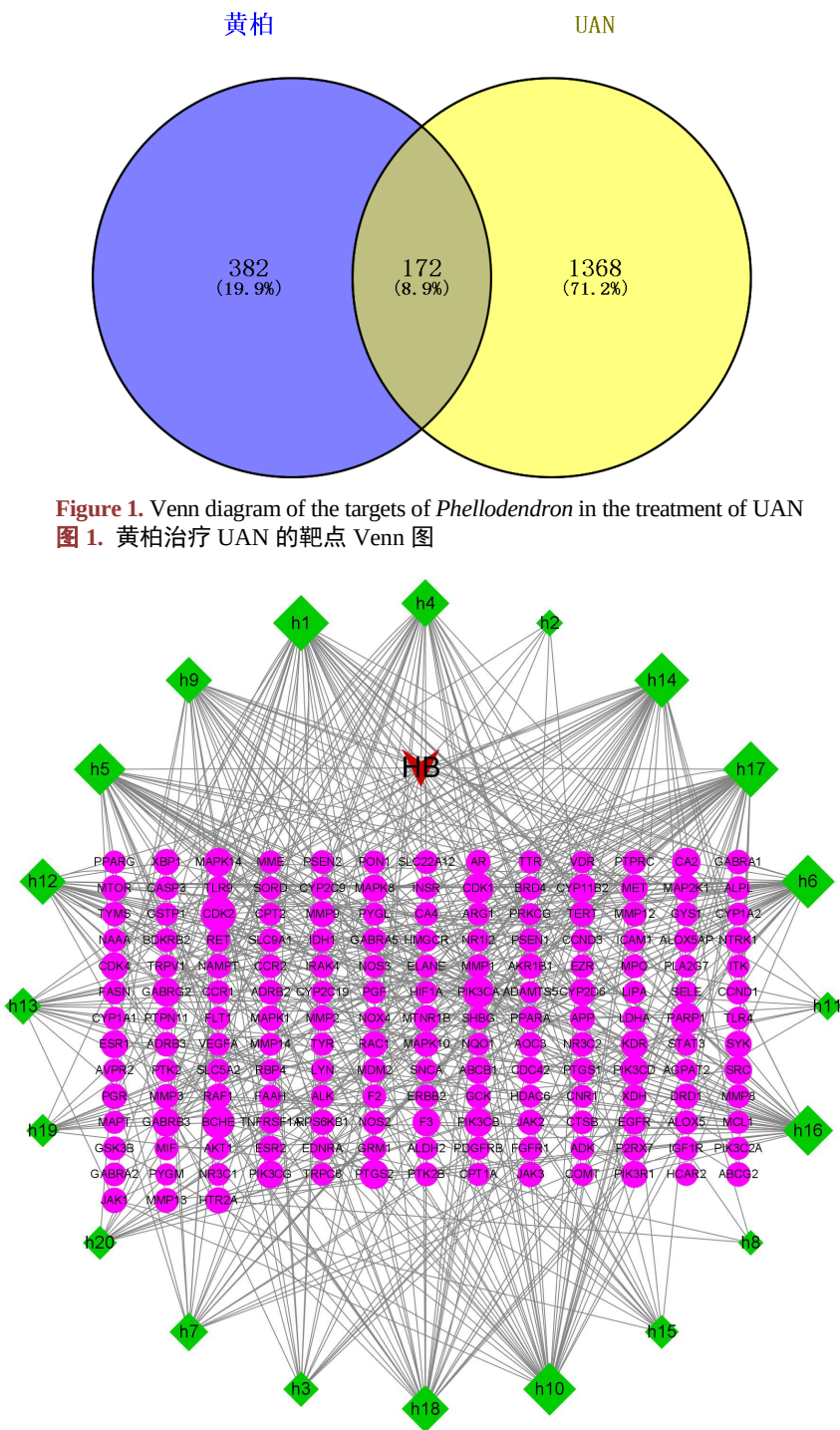


Figure 2. Phellodendron composition-intersection target network
图 2. 黄柏成分-交集靶点网络

表 1. 黄柏重要化合物信息表

DOI: 10.12677/acm.2024.14112935

临床医学讲展

3.3. 黄柏成分——UAN 靶点 PPI 网络构建

将黄柏和 UAN 的交集靶点提交至 String 数据库得到其 247 个潜在靶点, 并导入 Cytoscape3.9.1 构建, 结果如图 3 示。经 Cytoscape3.9.1 并利用 Centiscape2.2 插件通过计算 Degree 值、Betweenness 值、Closeness 值进一步分析后得到黄柏治疗 UAN 的关键靶点 33 个。并利用 Cytoscape3.7.0 中的“Network analyzer”插件对关键靶点的 PPI 网络进行分析。分析结果如图 4 所示, 节点越大、连线越多、颜色越深表明该靶点越重要。

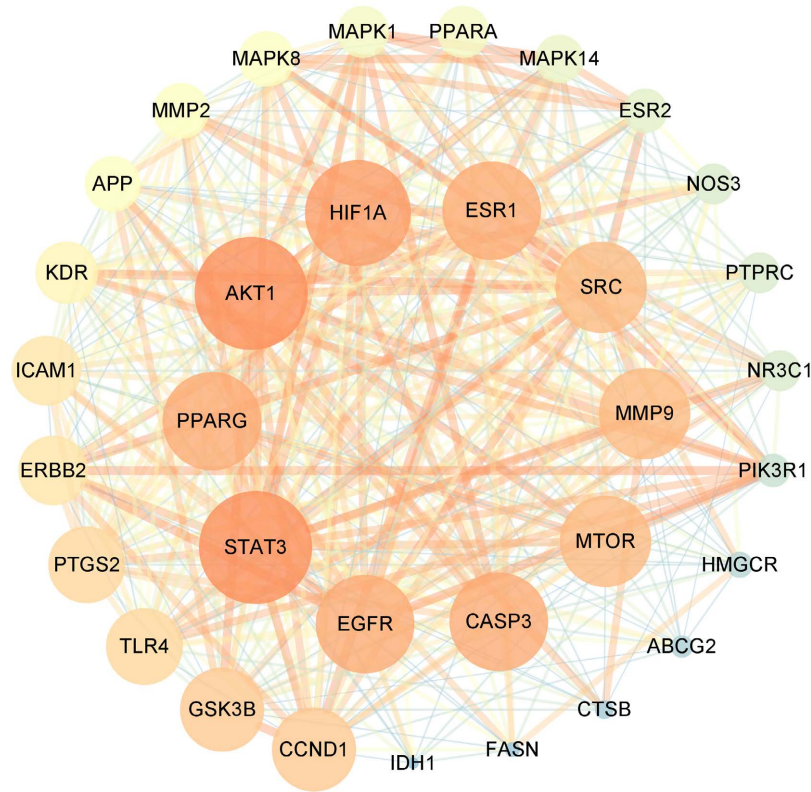


Figure 4. PPI protein interaction network of key targets
图 4. 关键靶点的 PPI 蛋白互作网络

3.4. 基因本体(GO)富集分析和京都基因和基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析

利用 Metascape 数据库进行分析, 得到 KEGG 通路 217 条, 通路富集显著表现在癌症途径、癌症中的蛋白聚糖、PI3K-Akt 信号通路、内分泌的阻力、脂质和动脉粥样硬化、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、化学致癌 - 受体活化、胰腺癌等见图 5。条目的前 20 条以气泡图呈现。

在 GO 生物进程分析过程中关联条目共 2723 个, 其中涉及生物过程条目共 1933 个, 分子功能条目共 193 个, 细胞组成条目共 115 个。其中生物过程涵盖了对激素的反应、积极调节细胞迁移、正调控磷酸代谢过程、正向调节磷酸盐代谢过程、细胞对氮化合物的反应等过程; 细胞组成包括受体复合物、膜筏、膜性结构域、树突、树枝状树突等部位; 分子功能包括调节磷酸转移酶活性, 醇基为受体、激酶活性、蛋白激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白激酶结合等。各条目的前 20 位合并为三合一的柱状图呈现, 见图 6。

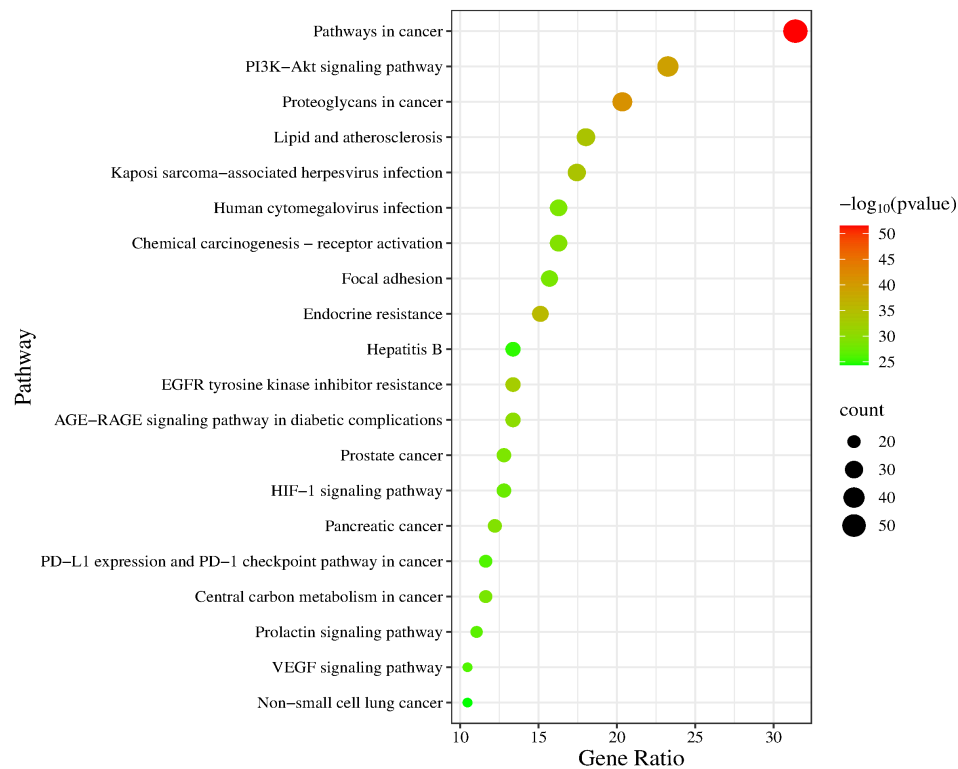


Figure 5. Enrichment analysis of KEGG signal pathway
图 5. KEGG 信号通路富集分析

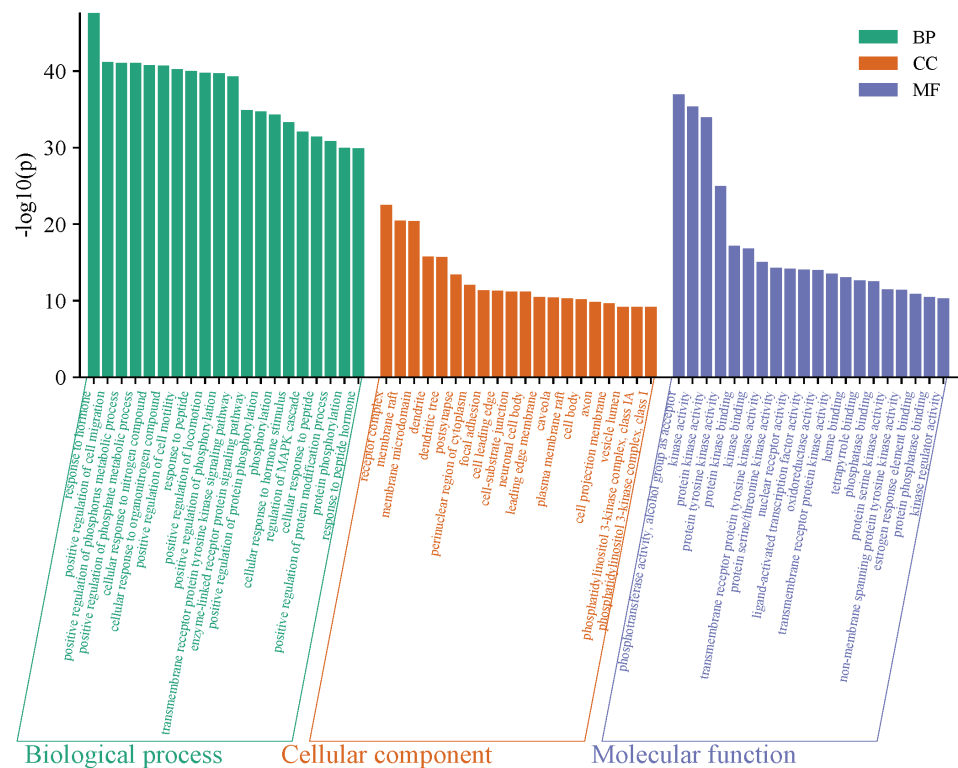


Figure 6. GO gene ontology analysis three-in-one diagram
图 6. GO 基因本体分析三合一图

4. 讨论

尿酸性肾病(UAN)在祖国医学中未有对应的记载, 根据临床表现, 可归属于“痛风”“历节”“痹症”等范畴, 其病机多为本虚标实, 风寒湿邪侵袭影响脾肾等脏腑发病, 多表现为脾肾功能失司, 并兼有痰瘀、湿浊、热毒等实邪[8]。黄柏为清热燥湿解毒之品, 长于泻肾之相火, 是治疗下焦湿热所致历节痛风之要药, 其与 UAN 病机相对应。且研究表明黄柏具有降低尿酸的作用[9]。虽然黄柏在临床上广泛用于 UAN, 但其有效成分和作用机制的研究尚有不足, 本研究通过网络药理学方法, 探究黄柏治疗 UAN 的潜在机制。

采用网络药理学解析黄柏治疗 UAN 的分子机制后, “黄柏有效成分-潜在靶点”图显示黄柏治疗 UAN 的核心成分为黄连素、槲皮素、棕榈碱、珊瑚菜素、白屈菜红碱等。黄连素又称小檗碱, 是从中药黄连中分离的一种季铵生物碱, 具有抗氧化、抗炎和抗细胞凋亡的特性。研究表明黄连素可以逆转炎症因子(IL-1 β 、IL-18)和乳酸脱氢酶(LDH)的上调, 并增强抗凋亡蛋白 BCL-2 的表达, 从而减轻尿酸诱导的肾脏细胞损伤[10]。二氢小檗碱是黄连素的氢化衍生物, 研究表明二氢小檗碱通过抑制高尿酸血症小鼠肾脏中的 XOD、URAT1、GLUT9 和 NLRP3 炎症小体的激活, 从而达到降尿酸和肾脏保护的作用[11]。槲皮素是一种天然黄酮类化合物, 具有较强的抗氧化性质, 可以稳定自由基并保护细胞免受自由基损伤[12]。研究表明槲皮素可以增强 ABCG2、URAT1、GLUT9 表达来减轻黄嘌呤氧化酶(XOD)抑制, 从而抑制尿酸合成和重吸收来改善高尿酸血症肾病[13]。由此可见黄柏主要通过抑制尿酸的合成、降低肾脏中炎症因子的表达等机制来治疗 UAN。

通过构建和分析 PPI 靶点网络得到核心靶点度值排名前十的靶点为 Akt1、EGFR、STAT3、SRC、CASP3、HIF1A、PPARG、MMP9、PTGS2、ESR1。Akt1 编码人类 Akt 丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶家族的三个成员之一, 通常称为蛋白激酶 B。研究表明尿酸性肾病细胞模型中 Akt 表达增加, 导致细胞炎症损伤明显加重[14]。同样有研究发现 Akt1 缺失小鼠导致肾纤维化和肾小管去分化的减弱[15]。EGFR 是表皮生长因子受体家族成员之一。EGFR 在肾脏的肾小球和肾小管中广泛表达, 持续且失调的 EGFR 激活会介导进行性肾损伤[16]。且研究证实阻断 EGFR 可以通过抑制 TGF- β 1 信号传导和炎症以及促进减少体内尿酸积累的分子过程来减弱 UAN 的发育[17]。STAT3 是一个信号转导和转录激活因子。STAT3 通过调节自噬相关基因水平来影响自噬的激活, 研究表明抑制 STAT3 与改善高尿酸血症和肾脏炎症有关[18]。由此可见黄柏通过多靶点、多机制治疗 UAN。

GO 功能富集分析结果表明, 黄柏治疗 UAN 的潜在靶点参与了多个生物过程与细胞组分, 涉及多种分子功能。其中, 在生物过程中的作用主要体现在对激素的反应、积极调节细胞迁移、正调控磷酸盐代谢过程、正向调节磷酸盐代谢过程、细胞对氮化合物的反应等过程; 在细胞组分方面, 受体复合物、膜筏、膜性结构域、树突、树枝状树突等多处细胞位置发挥作用; 靶点基因主要通过调节磷酸转移酶活性, 醇基为受体、激酶活性、蛋白激酶活性、蛋白酪氨酸激酶活性、蛋白激酶结合等发挥生物分子功能。以此推测, 黄柏可能通过调节以上方面主要发挥了对 UAN 的治疗作用。

KEGG 信号通路结果显示, 黄柏治疗 UAN 主要富集在癌症途径、癌症中的蛋白聚糖、PI3K-Akt 信号通路、内分泌的阻力、脂质和动脉粥样硬化、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性、AGE-RAGE 信号通路在糖尿病并发症中的作用、化学致癌-受体活化、胰腺癌等路径。PI3K/Akt 是一种经典的信号转导通路, 研究表明高尿酸通过激活 PI3K/Akt 信号通路, 从而促进促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 的释放, 导致肾脏肾间质炎症损伤和肾组织纤维化, 最终致使 UAN 的发生[19]。AGE-RAGE 信号通路是指由高血糖引起的蛋白质糖基化产物(AGEs)与其受体(RAGE)结合, 进而引发一系列反应的一种信号传导通路。研究表明 UAN 大鼠中 RAGE 受体会传播铁死亡诱导的肾损伤、炎症和纤维化[20], 且 AGE (RAGE)受体与其配体的结合在肾脏组织中引起氧化应激和慢性炎症, 最终导致肾功能丧失[21]。因此,

黄柏可能通过调节多通路调节炎症反应达到对 UAN 的治疗作用。

5. 小结

通过对于网络药理学对黄柏治疗 UAN 的分子作用机制的预测, 本研究为开展黄柏的临床应用提供了重要参考, 黄柏通过抑制尿酸的合成、降低肾脏的炎症反应治疗 UAN, 与目前研究治疗其作用机制符合, 证实了黄柏通过多成分、多靶点、多通路用于治疗 UAN。为其临床应用提供了进一步的理论依据, 但是考虑到本文仅通过检索数据库分析黄柏的药物成分来探讨其对 UAN 的作用机制仍存在一定的局限性, 之后仍需进行大量的实验和临床研究验证。

参考文献

- [1] 高尿酸血症相关疾病诊疗多学科共识专家组. 中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(3): 235-248.
- [2] Zheng, Z., Harman, J.L., Coresh, J., Köttgen, A., McAdams-DeMarco, M.A., Correa, A., *et al.* (2018) The Dietary Fructose: Vitamin C Intake Ratio Is Associated with Hyperuricemia in African-American Adults. *The Journal of Nutrition*, **148**, 419-426. <https://doi.org/10.1093/jn/nxx054>
- [3] 王雨, 林志健, 张冰. 尿酸代谢紊乱相关疾病的现代认知及中医药防治进展[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(12): 3160-3167.
- [4] 李顺民, 伍新林, 于俊生, 等. 尿酸性肾病的诊断、辨证分型及疗效评定(试行方案) [J]. 上海中医药杂志, 2008, 42(1): 23-25.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 第 1 部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [6] 李晨. 基于数据挖掘探析口服中药复方治疗尿酸性肾病的用药规律研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [7] 胡家才, 刘睿. 黄柏对尿酸性肾病大鼠肾组织肿瘤坏死因子 α 及环氧合酶-2 表达的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(5): 655-657.
- [8] 陈海敏, 柳红芳, 周盈, 等. 柳红芳论治痛风性肾病的思路[J]. 中医药导报, 2022, 28(11): 98-102.
- [9] 王昱, 陈凯, 周苏雅, 等. 中药黄柏通过阻断 RAS 对高尿酸血症 CKD 大鼠心脏损伤的保护作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2021, 22(7): 579-582+660.
- [10] Zheng, J., Gong, S., Wu, G., Zheng, X., Li, J., Nie, J., *et al.* (2023) Berberine Attenuates Uric Acid-Induced Cell Injury by Inhibiting NLRP3 Signaling Pathway in HK-2 Cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **396**, 2405-2416. <https://doi.org/10.1007/s00210-023-02451-3>
- [11] Xu, L., Lin, G., Yu, Q., Li, Q., Mai, L., Cheng, J., *et al.* (2021) Anti-Hyperuricemic and Nephroprotective Effects of Dihydroberberine in Potassium Oxonate and Hypoxanthine-Induced Hyperuricemic Mice. *Frontiers in Pharmacology*, **12**, Article 645879. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.645879>
- [12] 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.
- [13] Li, W., Chen, X., Li, F., Huiyao, Z., Song, Z. and Li, D. (2024) Quercetin Ameliorates Hyperuricemic Nephropathy by Repressing Uric Acid Synthesis and Reabsorption in Mice and Cells. *eFood*, **5**, e139. <https://doi.org/10.1002/efd2.139>
- [14] 谢婷妃, 袁树珍, 隋晓露, 等. 尿酸诱导人肾小管上皮细胞炎症损伤中 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的调控机制[J]. 中华肾脏病杂志, 2021, 37(1): 36-42.
- [15] Kim, I.Y., Park, Y.K., Song, S.H., Seong, E.Y., Lee, D.W., Bae, S.S., *et al.* (2020) Role of Akt1 in Renal Fibrosis and Tubular Dedifferentiation during the Progression of Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease. *The Korean Journal of Internal Medicine*, **36**, 962-974. <https://doi.org/10.3904/kjim.2020.198>
- [16] Zhang, M., Sasaki, K., Li, Y., Li, Z., Pan, Y., Jin, G., *et al.* (2019) The Role of the EGF Receptor in Sex Differences in Kidney Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*, **30**, 1659-1673. <https://doi.org/10.1681/asn.2018121244>
- [17] Liu, N., Wang, L., Yang, T., Xiong, C., Xu, L., Shi, Y., *et al.* (2015) EGF Receptor Inhibition Alleviates Hyperuricemic Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, **26**, 2716-2729. <https://doi.org/10.1681/asn.2014080793>
- [18] Wang, J., Bu, X., Qiu, X., Zhang, X., Gui, J., Zhang, H., *et al.* (2023) Qinling Liquid Ameliorates Renal Immune Inflammatory Damage via Activating Autophagy through AMPK/Stat3 Pathway in Uric Acid Nephropathy. *Cytokine*, **163**, Article 156120. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2022.156120>

- [19] 隋晓露, 许云鹏, 张燕子, 等. PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路在大鼠尿酸性肾病中的作用机制[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(18): 78-82.
- [20] Wang, Q., Zhao, H., *et al.* (2024) Ferroptosis Mediates the Progression of Hyperuricemic Nephropathy by Activating RAGE Signaling.
- [21] Sanajou, D., Ghorbani Haghjo, A., Argani, H. and Aslani, S. (2018) Age-Rage Axis Blockade in Diabetic Nephropathy: Current Status and Future Directions. *European Journal of Pharmacology*, **833**, 158-164.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.06.001>