

基于网络药理学探究复方双金颗粒治疗泌尿系结石作用机制

刘 裔¹, 范迢迢¹, 岑康铭¹, 张 烽¹, 何金军²

¹贵州中医药大学第一临床医学院, 贵州 贵阳

²贵州中医药大学第一附属医院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2023年2月20日; 录用日期: 2023年3月22日; 发布日期: 2023年3月29日

摘 要

目的: 通过网络药理学探究复方双金颗粒有效成分、泌尿系结石之间的网络关系, 探究复方双金颗粒作用机制。方法: 通过中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP)、中药分子机制的生物信息分析工具(BATMAN-TCM)筛选复方双金颗粒有效成分及相应的靶点; 从GeneCards、DisGeNET、OMIM、Drugbank数据库中获得泌尿系结石疾病相关靶点; 使用在线软件平台Venny2.1绘制药物、疾病的交集靶点维恩图; 通过Metoscape数据库对交集靶点进行基因本体功能(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 通过STRING在线数据库构建PPI网络, 同时导入Cytoscape3.9.1获取核心靶点; 通过Cytoscape3.9.1绘制活性成分-靶点网络。结果: 复方双金颗粒129种活性成分, 共作用于502个靶点; 疾病靶点743个, 疾病和药物交集靶点70个; 核心靶点包括肿瘤坏死因子(TNF)、血管内皮生长因子A (VEGFA)、核因子红细胞2相关因子2 (NFE2L2)、白细胞介素6 (IL6)、白介素-1 β (IL1B)等; GO富集分析在BP上主要为细胞对氧化应激、活性氧、脂质等的生物学过程, 在CC上表现为细胞膜、膜微区、膜筏等结构的细胞定位, 在MF上表现为肾上腺素能受体、细胞因子、配体激活转录因子等分子功能; KEGG富集分析主要包括流体剪切应力和动脉粥样硬化、AGE-RAGE、癌症、钙信号通路、肿瘤坏死因子等通路。结论: 复方双金颗粒有效成分可能通过各类氧化应激、炎症相关通路作用于泌尿系结石。

关键词

网络药理学, 复方双金颗粒, 泌尿系结石

Explore the Mechanism of Compound Shuangjin Granules in the Treatment of Urinary Calculi Based on Network Pharmacology

Yi Liu¹, Tiaotiao Fan¹, Kangming Cen¹, Feng Zhang¹, Jinjun He²

文章引用: 刘裔, 范迢迢, 岑康铭, 张烽, 何金军. 基于网络药理学探究复方双金颗粒治疗泌尿系结石作用机制[J]. 药物资讯, 2023, 12(2): 131-137. DOI: 10.12677/pi.2023.122017

¹First Clinical Medical College, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

Received: Feb. 20th, 2023; accepted: Mar. 22nd, 2023; published: Mar. 29th, 2023

Abstract

Objective: To explore the network relationship between the active components of Compound Shuangjin granules and urinary calculi through network pharmacology, and to explore the mechanism of action of compound Shuangjin granules. **Methods:** The effective components and corresponding targets of Compound Shuangjin granules were screened by TCMSP and BATMAN-TCM. The targets of urinary calculi disease were obtained from GeneCards, DisGeNET, OMIM and Drugbank databases. Venny2.1, an online software platform, was used to draw the intersection target Venn diagram of drugs and diseases. Metoscape database was used for gene ontology function (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis for intersection targets. Construct PPI network through STRING online database and import Cytoscape3.9.1 to obtain core target. Draw the active ingredient-target network via Cytoscape3.9.1. **Results:** There were 129 active components of Compound Shuangjin granules, which acted on 502 targets. There were 743 disease targets and 70 disease and drug intersection targets. Core targets include tumor necrosis factor (TNF), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), nuclear factor erythrocyte 2-associated factor 2 (NFE2L2), interleukin-6 (IL6), interleukin-1 β (IL1B), etc. In BP, GO enrichment analysis is mainly the biological process of cells to oxidative stress, reactive oxygen species, lipids, etc. In CC, it is the cell localization of cell membrane, membrane microregion, membrane raft and other structures. In MF, it is the molecular function of adrenergic receptors, cytokines, ligand-activated transcription factors and so on. KEGG enrichment analysis mainly included fluid shear stress and atherosclerosis, AGE-RAGE, cancer, calcium signaling pathways, tumor necrosis factor and other pathways. **Conclusion:** The active components of Compound Shuangjin granules may act on urinary calculi through various pathways related to oxidative stress and inflammation.

Keywords

Network Pharmacology, Compound Shuangjin Granules, Urinary Calculus

Copyright © 2023 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

泌尿系结石(urolithiasis)是泌尿外科的常见病,在住院患者中居首位。我国泌尿系结石整体发病率为1%~5%,南方高达5%~10%,年新发病率为(150~200)/10万人,其中25%的患者需住院治疗[1]。其主要症状为疼痛及血尿,同时也是诊断该病的主要临床症状。复方双金颗粒以传统中医辨证施治理论作为基础,主要机理特点是利水通淋、排石止痛[2]。本方由贵州中医药大学第二批全国名老中医药专家继承人常青主任医师在廖润泉教授多年的临床应用经验方基础上归纳、整理、总结而成。本方临床加减应用已1年有余,在临床上明确的排石、止痛等效果,其安全有效,费用低廉,但在疗效方面尚缺少一定的

临床数据支持。本文基于网络药理学探究复方双金颗粒治疗结石的作用机制，期望为该方后续研究及临床推广提供一定的理论支持。

2. 资料与方法

2.1. 复方双金颗粒活性成分及靶点筛选

通过中药系统药理学数据库分析平台(TCMSP)，对复方双金颗粒中 11 味药(金钱草、海金沙、车前草、萹蓄、葛根、白茅根、芍药、甘草、延胡索、枳壳、石韦)进行筛选，筛选标准为 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 。活性成分筛选完成后，再次筛选出对应靶标蛋白，通过 Uniprot 基因库(<https://www.uniprot.org/>)将靶标蛋白转换成靶点基因。因 TCMSP 数据库中不包含冬葵子及瞿麦，因此通过中药分子机制的生物信息分析工具(BATMAN-TCM) [3]，对复方双金颗粒中其余 2 味中药(冬葵子、瞿麦)进行分析，分析标准为 $Score\ cutoff = 20$ ， $P \leq 0.05$ 。

2.2. 复方双金颗粒治疗泌尿系结石潜在靶点的预测

以“uroolithiasis”“kidney stone”“ureteral calculus”为关键词分别 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、DisGeNET (<https://www.disgenet.org/>)、OMIM (<https://omim.org/>)、Drugbank (<https://go.drugbank.com/>)数据库中检索相关疾病靶点。通过 Venny2.1.0 在线平台绘制韦恩图，得到复方双金颗粒药物活性成分靶点与疾病靶点的交集靶点，即潜在的预测靶点，最终预测出 70 个靶点。

2.3. 复方双金颗粒治疗泌尿系结石的关键活性成分及靶点预测

通过 Cytoscape3.9.1 软件构建“中药 - 活性成分 - 疾病靶点”网络图，同时进行拓扑分析得到复方双金颗粒治疗泌尿系结石的关键活性成分及靶点。

2.4. 蛋白质 - 蛋白质相互作用网络(PPI)构建

通过 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)构建蛋白质互作网络，将预测的靶点 70 个导入该数据库，去除游离节点 4 个后导入 Cytoscape3.9.1 通过 CytoNCA 进行拓扑分析，筛选出复方双金颗粒治疗泌尿系结石的核心靶点蛋白。

2.5. 基因富集分析

通过 Metascape 数据库(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)，进行基因本体功能(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析， $P \leq 0.01$ ， $Min\ Enrichment = 3$ 。

3. 结果

3.1. 复方双金颗粒的活性成分及其作用靶点

在 TCMSP 及 BATMAN-TCM 中检索得到金钱草、海金沙、车前草、萹蓄、葛根、白茅根、芍药、甘草、延胡索、枳壳、石韦、冬葵子、瞿麦的活性成分分别为 10、9、5、5、4、4、8、88、14、5、4、3、7 种，其中共有成分 13 种。合并去重后得到 129 种活性成分，共作用于 502 个靶点。

3.2. 交集靶点

分别从 GeneCards、DisGeNET、OMIM、Drugbank 数据库中检索得出与泌尿系结石相关靶点 447、290、32、57 个，合并去重得到 743 个疾病相关靶点，与复方双金颗粒活性成分作用靶点取交集靶点，最终得出 70 个交集靶点(见图 1)。

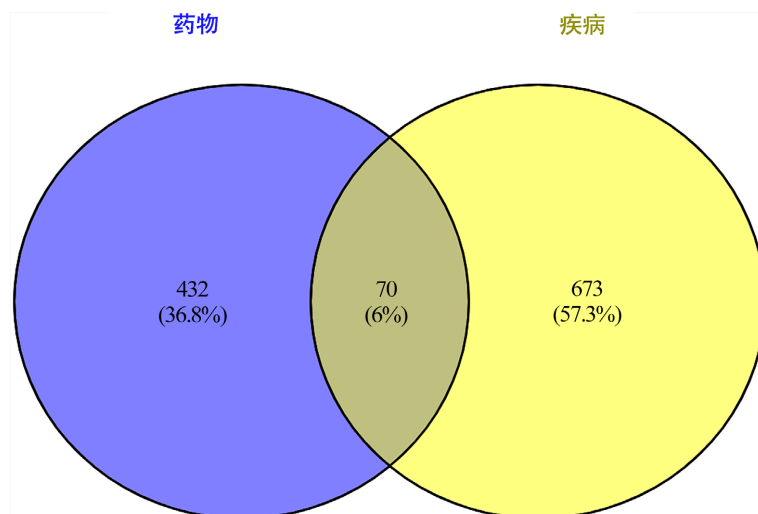


Figure 1. Intersection of drug and disease targets
图 1. 药物 - 疾病靶点交集

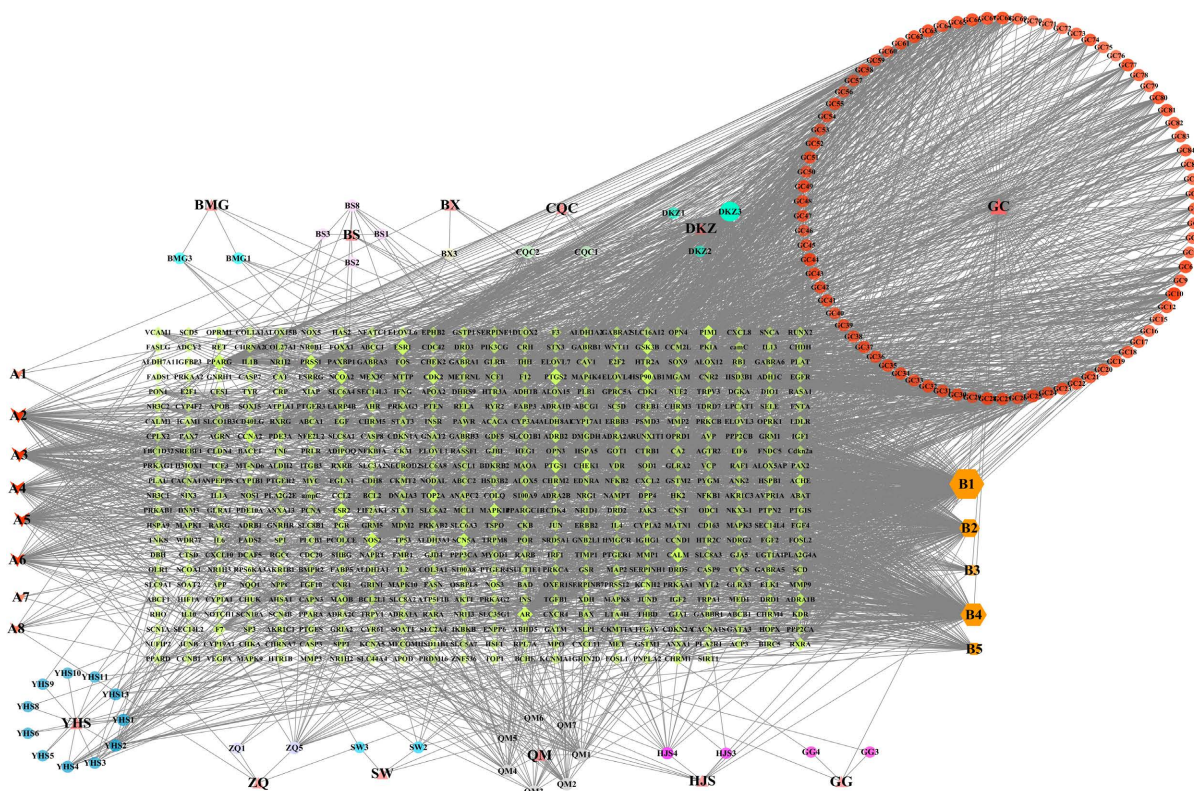


Figure 2. Active ingredient-target network diagram (note: A1 - A8 two taste of Chinese traditional medicine ingredients, B1 - B5 many kinds of traditional Chinese medicine common composition, BMG: cogongrass rhizome, BS: radix paeoniae alba, BX: Bian storage, CQC: plantain, DKZ: winter sun, GC: licorice, GG: puerarin, HJS: sea sands, QM: dianthus superbus, SW: herba pyrosiae, ZQ: orange, YHS: (Note: A1-A8 common constituents, B1-B5 common constituents, Polygonum aviculare, Polygonum aviculare, Polygonum aviculare, CQC: plantago, DKZ: DKZ, glycyrrhiza, GG: Radix glycyrrhiza, HJS: Haijin-sha, QM: Qu Mai, SW: Shi Wei, ZQ: Fructus aurantii, YHS: Rhizoma Corydalis. The shape, size and shade changes in the figure are determined by Degree value)

图 2. 活性成分 - 靶点网络图(注: A1-A8 两味中药共有成分, B1-B5 多味中药共有成分, BMG: 白茅根, BS: 白芍, BX: 篇蓄, CQC: 车前草, DKZ: 冬葵子, GC: 甘草, GG: 葛根, HJS: 海金沙, QM: 瞿麦, SW: 石葶, ZQ: 枳壳, YHS: 延胡索, 图中形状大小、明暗变化由 Degree 值决定)

3.3. 活性成分 - 靶点网络构建

应用 Cytoscape3.9.1 软件绘制复方双金颗粒活性成分及作用靶点间的可视化网络(见图 2)。发现 degree 靠前的成分主要为槲皮素、山柰酚、甾醇、亚油酸等。

3.4. PPI 网络构建及核心靶点获取

将交集靶点导入 STRING 数据库, 去除游离节点 4 个, 成功构建 PPI 网络含有 66 个节点、525 条边, 将 PPI 网络导入 Cytoscape3.9.1 通过插件 CytoNCA 进行拓扑分析, 经过筛选得出核心靶点 11 个(见图 3)。核心靶点为肿瘤坏死因子(TNF)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、核因子红细胞 2 相关因子 2 (NFE2L2)、基质金属蛋白酶-9 (MMP9)、一氧化氮合酶(NOS3)、过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPARG)、白细胞介素 6 (IL6)、白介素-1 β (IL1B)、过氧化氢酶(CAT)、表皮生长因子受体(EGFR)、胰岛素(INS)。说明这些靶点可能是复方双金颗粒治疗泌尿系结石的核心靶点。在中药中的主要成分为槲皮素、芍药苷、山柰酚、儿茶素、亚油酸, 说明中药中的这些成分在复方双金颗粒治疗泌尿系结石时起主要作用。

3.5. 靶点的 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

通过 Matescape 平台对交集靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。GO 功能富集分析后得到, 生物学过程(BP)、分子功能(MF)、细胞定位(CC)相关条目(见图 4)。KEGG 通路富集分析得到 142 条信号通

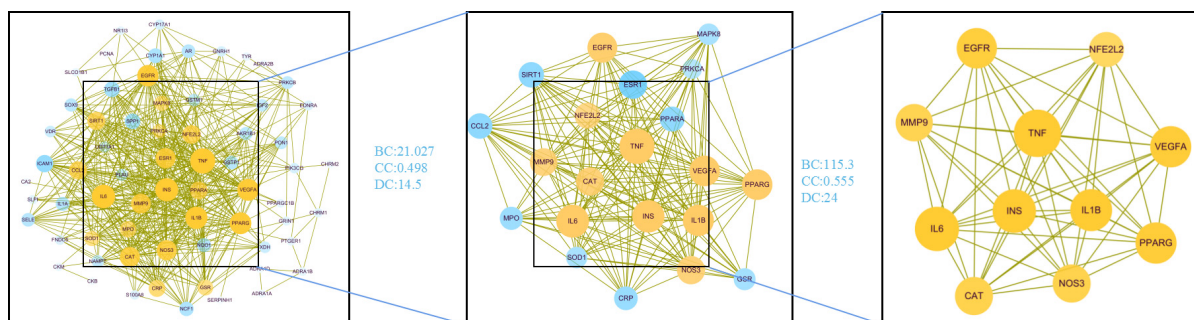


Figure 3. PPI network and core target

图 3. PPI 网络及核心靶点

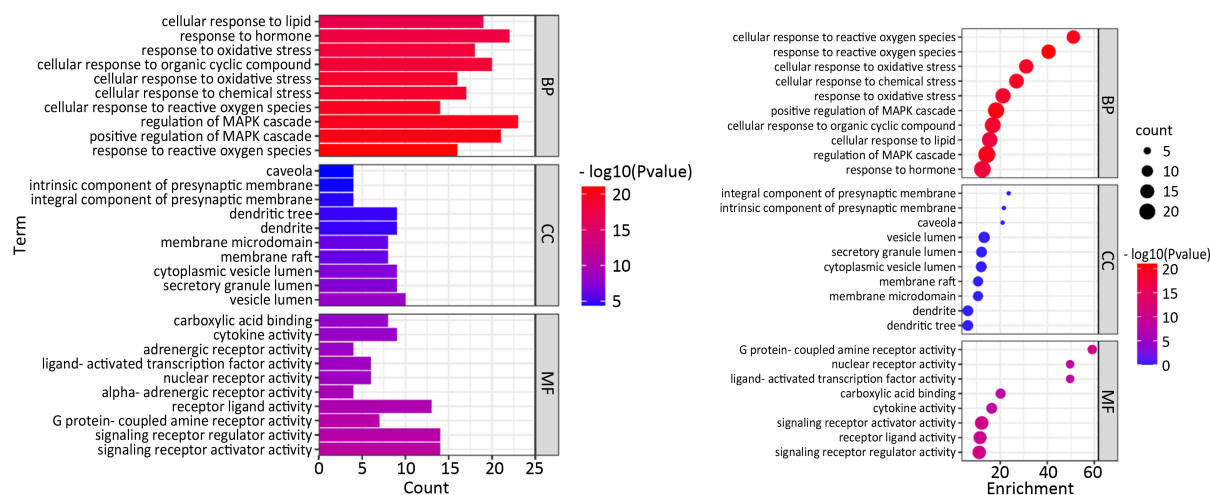


Figure 4. GO enriched column diagram and bubble diagram

图 4. GO 富集柱状图及气泡图

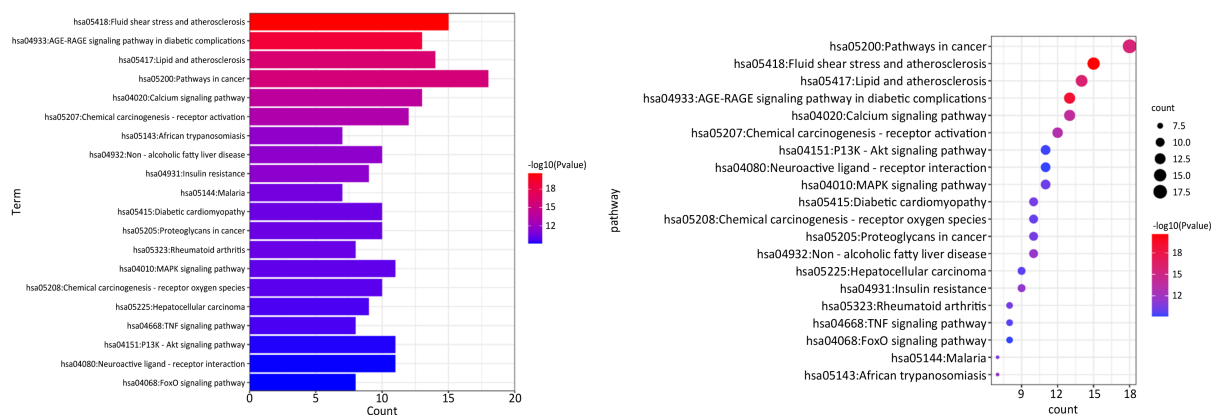


Figure 5. KEGG enrichment column and bubble diagram

图 5. KEGG 富集柱状图及气泡图

路, 主要包括流体剪切应力和动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、脂质和动脉粥样硬化、癌症通路、钙信号通路、化学致癌 - 受体激活、锥虫病、非酒精性脂肪肝、胰岛素抵抗、疟疾、糖尿病心肌病、癌症蛋白聚糖、类风湿性关节炎、MAPK 信号通路、化学致癌 - 活性氧、肝细胞癌、肿瘤坏死因子信号通路等, 多与炎症、血管病变、糖尿病、肿瘤相关(见图 5)。

4. 讨论

通过网络药理学分析, 复方双金颗粒中主要活性成分槲皮素、芍药苷、山柰酚、儿茶素、亚油酸。其中槲皮素[4]、山柰酚[5]均为黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化的作用, 对泌尿系结石可能通过 TLR4/NF- κ B 通路进行作用。芍药苷, 具有抗炎、抗过敏、抗氧化作用, 可能跟 ERK/p38MAPK 信号通路的激活有关[6]。儿茶素属黄烷-3-醇类化合物, 具有抗氧化、抗过敏、抗菌等作用, 可能通过 Nrf2 信号通路进行作用[7]。亚油酸是一种必须脂肪酸, 具有抗炎的作用, 可能通过 TLR4/NF- κ B 通路进行作用[8]。据此推测复方双金颗粒主要有效成分可能通过抗炎、抗氧化等对泌尿系结石起作用。

GO 富集分析结果提示, 复方双金颗粒有效成分在 BP 上主要为细胞对氧化应激、活性氧、脂质、激素、化学压力、有机环化合物等的生物学过程, 在 CC 上表现为细胞膜、膜微区、膜筏、突触、树突、胞质囊腔等结构的细胞定位, 在 MF 上表现为肾上腺素能受体、细胞因子、配体激活转录因子、核受体、受体配体、信号受体的活性及羧酸结合等分子功能。

KEGG 通路富集分析结果显示, 主要富集通路为以下通路, 流体剪切应力和动脉粥样硬化通路, 由于血管结构功能的异常使涡流产生, 导致高血流剪切力下降, 增大内皮细胞渗透性, 使氧化应激产物和促炎因子增多[9]。AGE-RAGE 信号通路, 血液中的葡萄糖含量过高时, 会产生糖基化终末端(advanced glycation endproducts, AGEs), 可与其受体结合, 即晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end product, RAGE)结合, 最终可促进氧化应激及炎症反应[10]。脂质和动脉粥样硬化通路, 血管壁脂质沉积、纤维化、钙化等血管病变导致动脉粥样硬化, 其中重要的环节为血管内皮的氧化应激和炎症[11]。癌症通路[12], 其中氧化应激状态下可使机体产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS), 在大量 ROS 刺激下可造成细胞异常的增殖、分化、突变、癌变等[13]。钙信号通路[14]、肿瘤坏死因子通路[15], MAPK 信号通路[16]等, 均在氧化应激及炎症方面起着重要作用。此外 FOXO 信号通路[17]、P13K-Akt 信号通路[18]同氧化应激、癌症通路等密切相关。

综上推测, 复方双金颗粒有效成分可能通过各类氧化应激、炎症相关通路作用于疾病相关靶点, 核心靶点 TNF、VEGFA、Nrf2、NOS3、PPARG、IL6、IL1B 等均与氧化应激、炎症相关。对于复方双金

颗粒网络药理学探究, 可为后期对复方双金颗粒的进一步研究提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 黄健, 王建业, 孔垂泽, 等. 中国泌尿外科和男科疾病诊断治疗指南[M]. 北京: 科学出版社, 2020.
- [2] 申军, 常青, 吴栖岸, 等. 自拟排石 1 号方联合盐酸坦索罗辛治疗输尿管下段结石的临床对比观察[J]. 贵阳中医学院学报, 2014, 36(4): 108-109.
- [3] Liu, Z., Guo, F., Wang, Y., *et al.* (2016) BATMAN-TCM: A Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 21146. <https://doi.org/10.1038/srep21146>
- [4] He, X., Wen, Y., Wang, Q., *et al.* (2021) Apigenin Nanoparticle Attenuates Renal Ischemia/Reperfusion Inflammatory Injury by Regulation of miR-140-5p/CXCL12/NF- κ B Signaling Pathway. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, **17**, 64-77. <https://doi.org/10.1166/jbn.2021.3010>
- [5] 程笑, 杨滢霖, 李伟瀚, 等. 山柰酚对 LPS 诱导小鼠急性肾损伤作用及机制探讨[J]. 中国药理学杂志, 2020, 55(17): 1439-1443.
- [6] 谢亚平, 叶莹, 余枫, 等. 芍药苷对高糖培养小鼠肾小球系膜细胞氧化应激及炎症反应的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(9): 2256-2258.
- [7] Lazaro, I., Lopez-Sanz, L., Bernal, S., *et al.* (2018) Nrf2 Activation Provides Atheroprotection in Diabetic Mice through Concerted Upregulation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Autophagy Mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, **9**, 819. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00819>
- [8] 胡丹东, 崔玉娟, 张继. 亚油酸通过调节 TLR4/NF- κ B 信号通路减轻大鼠类风湿关节炎[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(9): 1213-1218.
- [9] Son, K., Small, M., Sehmi, R., *et al.* (2020) The Eosinophil Actin Cytoskeleton Undergoes Rapid Rearrangement in Response to Fluid Shear Stress. *Journal of Leukocyte Biology*, **108**, 129-137. <https://doi.org/10.1002/JLB.1MA0320-349RR>
- [10] Fukami, K., Yamagishi, S.-I. and Okuda, S. (2014) Role of AGEs-RAGE System in Cardiovascular Disease. *Current Pharmaceutical Design*, **20**, 2395-2402. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990475>
- [11] Engelen, S.E., Robinson, A.J., Zurke, Y.-X., *et al.* (2022) Therapeutic Strategies Targeting Inflammation and Immunity in Atherosclerosis: How to Proceed? *Nature Reviews Cardiology*, **19**, 522-542. <https://doi.org/10.1038/s41569-021-00668-4>
- [12] Sposito, C., Camargo, M., Tibaldi, D.S., *et al.* (2017) Antioxidant Enzyme Profile and Lipid Peroxidation Products in Semen Samples of Testicular Germ Cell Tumor Patients Submitted to Orchiectomy. *International Brazilian Journal of Urology*, **43**, 644-651. <https://doi.org/10.1590/s1677-5538.ibju.2016.0323>
- [13] 刘倩, 文海若, 王雪. 氧化应激与化合物非遗传毒性致癌性的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(8): 1318-1324.
- [14] Xu, J., Meng, Y., Jia, M., *et al.* (2021) Epithelial Expression and Role of Secreted STC1 on Asthma Airway Hyperresponsiveness through Calcium Channel Modulation. *Allergy*, **76**, 2475-2487. <https://doi.org/10.1111/all.14727>
- [15] Pandey, P. and Karupiah, G. (2022) Targeting Tumour Necrosis Factor to Ameliorate Viral Pneumonia. *The FEBS Journal*, **289**, 883-900. <https://doi.org/10.1111/febs.15782>
- [16] 郑超, 皮劲松, 吴艳, 等. 丝裂原活化蛋白激酶抑制剂对氧化应激鸭小肠上皮细胞屏障功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2022, 58(4): 242-246.
- [17] 陈小青, 彭波, 姜红梅, 等. 丹酚酸 B 通过介导 SIRT3/FOXO1 信号通路减轻非酒精性脂肪肝的氧化应激反应(英文) [J]. 中国药理学(英文版), 2022, 31(9): 698-710.
- [18] 耿军辉, 张丽军, 王亚丽, 等. PI3K/Akt 信号通路与肿瘤血管新生的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(9): 1462-1466.