论 著

仙芪消渴饮治疗糖尿病肾脏病的潜在作用机制

刘梦阳[1]，李海勇[2]，郭　燕[3]，张富庚[4]，刘征堂[1]
1.中国中医科学院西苑医院 老年病科（北京 100091）；2.苏州市中西医结合医院 康复科（苏州 215101）；3.北京香山社区卫生服务中心中医科（北京 100093）；4.天津市环湖医院 药剂科（天津 300350）

【摘　要】目的 基于网络药理学和分子对接法研究仙芪消渴饮治疗糖尿病肾脏病的潜在作用机制，为经典名方再开发提供循证医学支撑。**方法** 在检索数据库和查阅文献后对仙芪消渴饮的活性成分和相应靶点作出预测；从GEO数据库中获取糖尿病肾脏病相关基因芯片数据并分析筛选出差异基因序列确定为DKD靶点；通过Cytoscape软件及Bisogenet、CytoNCA、MCODE插件功能实现网络构建、拓扑分析与模块化分析；在R3.6.2环境下运行生物信息软件包Bioconductor实现富集分析；完成分子对接以验证活性成分与关键靶点的亲和力。**结果** 仙芪消渴饮共涉及193个活性成分、24个关键靶点；围绕从蛋白互作核心网络中提取的2个模块，GO分析共得到588个生物学过程、47个细胞组分、72个分子功能；KEGG分析共富集30条通路，经拣择发现与糖尿病肾脏病关系较为密切的信号通路与生物学过程主要包括PI3K-Akt信号通路、甲状腺激素信号通路、泛素-蛋白酶体系统和内质网应激。经分子对接验证，槲皮素、熊竹素、食脂素、木犀草素可与其蛋白靶标有效结合，这四种可能活性成分作为药效分子具有一定肾脏保护作用。**结论** 仙芪消渴饮是通过多成分、多靶点、多通路对糖尿病肾脏病进行干预而发挥作用。

【关键词】网络药理学；分子对接；仙芪消渴饮；糖尿病肾脏病；关键靶点
【中图分类号】 R285.5　　**文献标志码** A　　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.06.007

Mechanism of Xianqixiaoke Decoction in the Treatment of Diabetic Kidney Disease

LIU Mengyang[1], LI Haiyong[2], GUO Yan[3], ZHANG Fugeng[4], LIU Zhengtang[1]
1. *Department of Geriatrics, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;* 2. *Department of Rehabilitation, Suzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Suzhou 215101, China;* 3. *Department of T.C.M, Xiangshan Community Health Service Center, Beijing 100093, China;* 4. *Department of Pharmacy, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China*

【Abstract】Objective This study was designed to explore the mechanism of Xianqixiaoke Decoction in the treatment of diabetic kidney disease (DKD) by network pharmacology and molecular docking, aiming to provide basis for redevelopment of ancient classical famous formulas. **Methods** The active ingredients and targets of Xianqixiaoke Decoction were obtained by consulting references and docament retrieval. Genetic chips related to DKD were screened through GEO database and differentially expressed genes (DEGs) were acquired by differential analysis, which were taken as targets associated with DKD. The network maps of drug-components-targets-disease were constructed by Cytoscape software after intersecting the two target data sets. The essential functional modules of PPI core network which was searched by network topology were built by MCODE. The related GO gene function and KEGG pathway enrichment analyses were carried out by applying Bioconductor software. The molecular docking was completed to verify the affinities of active components and key targets. **Results** A total of 193 active ingredients and 24 targets were obtained. A total of 588 biological processes, 47 cell components and 72 molecular functions were obtained by GO analysis from the two modules extracted from the protein interaction core network. A total of 30 pathways were enriched by KEGG analysis. The signal pathways and biological processes closely related to diabetic kidney disease mainly included PI3K-Akt signaling pathway, thyroid hormone signaling pathway, ubiquitin- proteasome system and endoplasmic reticulum stress. Four active ingredients verified by molecular docking, including quercetin, jaranol, DFV and luteolin, played a part in kidney protection. **Conclusion** Xianqixiaoke decoction played a role in the treatment of diabetic kidney disease through the intervention of multiple components, multiple targets and multiple pathways.

【Key words】 Network pharmacology; Molecular docking; Xianqixiaoke decoction; Diabetic kidney disease; Key target

基金项目：科技部国家重点研发计划（2020YFC2006103）；第四批全国中医优秀人才（临床、基础）研修项目（国中医药人教发[2017]24号）
第一作者简介：刘梦阳，主治医师，博士。
通信作者：刘征堂，主任医师，博士。E-mail:doctorzht@126.com
引用本文：刘梦阳，李海勇，郭燕，等. 仙芪消渴饮治疗糖尿病肾脏病的潜在作用机制[J]. 西南医科大学学报，2022，45（6）：493-500.DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.06.007

糖尿病肾脏病（diabetic kidney disease，DKD）是由糖尿病导致的慢性肾脏疾病（chronic kidney disease，CKD），是目前引起终末期肾脏疾病（End-stage renal disease，ESRD）最主要的原因[1]。文献报道我国2型糖尿病患者DKD患病率为20%～40%[2-3]；与不合并DKD的糖尿病病人相比，DKD病人死亡率更高。

糖尿病肾脏病属于中医“水肿”、“关格”范畴。中国中医科学院西苑医院老年病科自2型糖尿病作为临床路径以来，通过不断梳理，经层次聚类和复杂网络分析得到：糖尿病由早中期进展至晚期，病性由实转虚、病位由上中二焦转向下焦，核心处方由以清利湿热、凉血散瘀、疏达上中二焦郁滞的“桑蚕饮”（科室另一自拟方）过渡到以补肾填精、利湿化浊为法的六味地黄汤类方。科室自拟仙芪消渴饮，针对糖尿病肾功能受损这一并发症疗效显著[4]。

网络药理学以网络靶标为核心，对药物与疾病的机制性关联进行系统化、可视化地揭示解构；因其研究思路和学科特点与中医药整体观念不谋而合，故近年来已被广泛应用于中药研发[5-6]。分子对接是将配体分子置于受体分子活性位点区域并通过几何互补、能量互补等原则找到二者的最佳结合模式[7]。本研究拟借助网络药理学和分子对接法探索仙芪消渴饮治疗糖尿病肾脏病的核心药效团及其作用机制，以期为优化临床路径、经典名方再开发提供循证医学依据。

1 材料与方法

1.1 活性成分收集和靶点预测

应用数据库TCMSP（http://tcmspw.com/tcmsp.php）以药物口服生物利用度（oral bioavailability，OB）≥30%，类药性（drug-likeness，DL）≥0.18作为筛选条件，依次搜索仙芪消渴饮中的10味中药得到各自的活性成分；再通过文献挖掘予以补充后查询出相应靶点信息。

1.2 确定DKD相关靶点

1.2.1 提取基因芯片样本信息 登录GEO数据库（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/），输入“diabetic kidney disease”进行检索，筛选出同时含有DKD肾组织和对照肾组织的人源基因芯片并从中提取样本数据。

1.2.2 获取差异基因（DEGs）序列 首先，通过Perl脚本将DKD相关基因芯片的样本数据分组条理化；之后在R3.6.2环境下，按照$P.Val < 0.05$、$|log2(FC)| > 0.5$的条件依托Bioconductor（www.bioconductor.org/）功能包筛选出DKD肾组织较对照肾组织显著上调、下调的差异基因序列，合为DKD相关靶点；同时绘制相应的热图和火山图。

1.3 创建“中药复方成分-疾病-靶点网络”

利用韦恩图（Venn Diagram）确定仙芪消渴饮治疗DKD的潜在作用靶点，即二者靶点之交集。通过Cytoscape3.7.2软件将“中药复方成分-疾病-靶点网络”可视化。

1.4 分析靶蛋白互作网络

利用Cytoscape3.7.2插件Bisogenet构建蛋白互作网络（protein-protein interaction，PPI）；CytoNCA插件对其进行拓扑分析，先后点击Centralities下“degree（DC）”、analyze、DC＞61和Centralities下“Betweeness（BC）”、analyze、BC＞600，得到PPI核心网络。

1.5 挖掘PPI核心网络功能模块

利用MCODE插件的聚类算法寻找基因簇，从而实现对PPI核心网络的模块化分析。在操作过程中分别设定“Degree Cutoff”、“Node Score Cutoff”、“K-Core”和“Max.Depth”，依次为2、0.2、5、100。

1.6 GO功能富集分析及KEGG通路富集分析

运行R3.6.2软件以$P < 0.05$作为靶基因筛选条件，借助Bioconductor功能包实现GO和KEGG分析；同时根据*P*.adjust分别绘制柱状图和气泡图。

1.7 分子对接

选取PPI核心网络中Degree参数大于中位数且与显著性较强的富集分析结果密切相关的重要靶点（HSP90AA1、CDK2、ESR1、MDM2）作为蛋白受体，相应的药物成分（槲皮素、熊竹素、食脂素、木犀草素）作为配体。分别应用PDB（http://www.rcsb.org/）和Pubchem数据库（https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/）筛选出靶点蛋白三维结构和药物成分二维结构。运用PyMol软件删除靶点蛋白三维结构上的水分子及小分子配体并保存为pdb格式。运行ChemBio3D软件将药物成分二维结构转换为三维结构并对其进行优化（选择“calculations”-“MM2”-“Minimize Energy”-“Run”），保存为mol2格式。应用AutoDock软件将二者转化为PDBQT格式并确定活性口袋。最后使用Vina软件进行分子对接，利用Pymol软件将对接结果可视化。

2 结果

2.1 仙芪消渴饮活性成分收集和靶点预测结果

经筛选仙芪消渴饮各中药所含活性成分分别为山药16个、山茱萸20个、熟地2个、牡丹皮11个、茯苓15个、泽泻10个、黄芪20个、仙灵脾（淫羊藿）23个、北沙参8个、甘草92个；在剔除重复项后共得到193个活性成分，按照OB值由高至低排序后选取前20项结果展示见表1。通过TCMSP数据库搜索后共得到潜在靶点245个，部分靶标展示见表2。

表1 仙芪消渴饮部分活性成分基本信息

Table 1 Active ingredients in Xianqixiaoke Decoction

分子ID	化学成分	OB(%)	DL
MOL000398	Isoflavanone	109.99	0.30
MOL002311	Glycyrol	90.78	0.67
MOL004990	7, 2′, 4′-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin	83.71	0.27
MOL000546	Diosgenin	80.88	0.81
MOL004904	Licopyranocoumarin	80.36	0.65
MOL004891	Shinpterocarpin	80.30	0.73
MOL005017	Phaseol	78.77	0.58
MOL004841	Licochalcone B	76.76	0.19
MOL004810	Glyasperin F	75.84	0.54
MOL001484	Inermine	75.18	0.54
MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30
MOL000500	Vestitol	74.66	0.21
MOL005007	Glyasperins M	72.67	0.59
MOL004941	(2R) -7-hydroxy-2- (4-hydroxyphenyl)chroman-4-one	71.12	0.18
MOL005531	Telocinobufagin	69.99	0.79
MOL004959	1-Methoxyphaseollidin	69.98	0.64
MOL000392	Formononetin	69.67	0.21
MOL000433	FA	68.96	0.71
MOL005552	Gemin D	68.83	0.56
MOL001925	Paeoniflorin_qt	68.18	0.40

表2 仙芪消渴饮部分靶点基本信息

Table 2 Targets of Xianqixiaoke Decoction

药物	分子ID	靶标名	基因
熟地	MOL000359	Progesterone receptor	*PGR*
熟地	MOL000449	Mineralocorticoid receptor	*NR3C2*
茯苓	MOL000273	Nuclear receptor coactivator 2	*NCOA2*
茯苓	MOL000296	Sodium-dependent noradrenaline transporter	*SLC6A2*
甘草	MOL001484	Muscarinic acetylcholine receptor M3	*CHRM3*
甘草	MOL002311	Nitric oxide synthase, inducible	*NOS2*
甘草	MOL004912	Dipeptidyl peptidase IV	*DPP4*
黄芪	MOL000098	Interleukin-2	*IL2*
黄芪	MOL000422	Heme oxygenase 1	*HMOX1*
黄芪	MOL000392	Cyclin-A2	*CCNA2*
牡丹皮	MOL000492	Calmodulin	*CALM1*
牡丹皮	MOL007374	Glycogen synthase kinase-3 beta	*GSK3B*
山药	MOL005440	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-1	*GABRA1*
山药	MOL000546	Transcription factor p65	*RELA*
山茱萸	MOL001494	Prostaglandin G/H synthase 1	*PTGS1*
山茱萸	MOL008457	Trypsin-1	*PRSS1*
仙灵脾	MOL001792	Beta-2 adrenergic receptor	*ADRB2*
仙灵脾	MOL003044	Serine/threonine-protein kinase Chk1	*CHEK1*
泽泻	MOL000862	Glucocorticoid receptor	*NR3C1*
泽泻	MOL002464	Prostaglandin G/H synthase 1	*PTGS1*

2.2 DKD相关靶点

2.2.1 基因芯片筛选结果与样本数据 研究共纳入样本69例，其中实验组(DKD肾组织)19例、对照组50例；源自GEO数据库DKD基因芯片(编号：GSE30122)。

2.2.2 差异基因(DEGs)序列的确定 经筛选共得到638个差异基因，将该差异基因序列确定为DKD相关靶点，所绘制的差异热图，见图1(图中仅显示前20位上调和下调基因)和差异火山图，见图2。

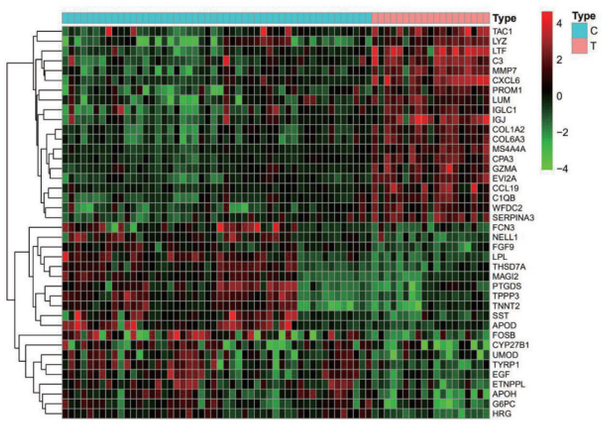


图1 差异基因热图

Figure 1 Heat map of DEGs

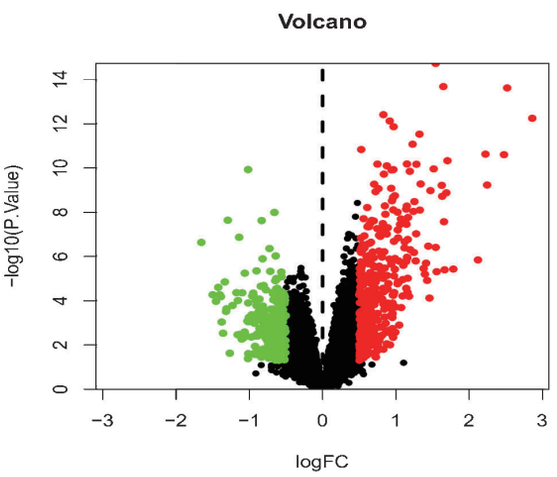


图2 差异基因火山图

Figure 2 Volcano plot of DEGs

2.3 “中药复方成分-疾病-靶点网络”构建结果

仙芪消渴饮治疗DKD的潜在作用靶点共24个，见图3。

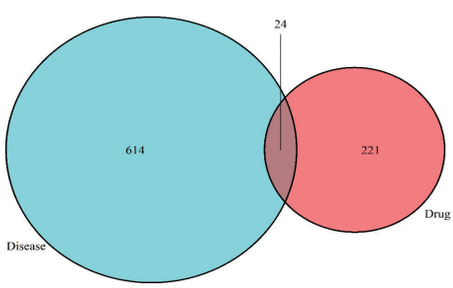


图3 药物靶点-疾病靶点韦恩图

Figure 3 Venn diagram of drug target-disease target

图4为经Cytoscape3.7.2软件可视化处理后的“中药复方成分-疾病-靶点网络”图，即中药复方调控网络图，它共包含124个节点、167条边：其中24个天蓝色三角形节点代表24个靶基因；另外100个不同颜色的节点代表来自不同中药且与靶基因相关联的活性成分，绿色代表“甘草”、黄色代表“黄芪”、粉色象征“牡丹皮”、灰色视为“山药”、紫色表示“山茱萸”、棕色视为“仙灵脾”、红色则象征多种中药共同所有；“多药共有”成分集中在槲皮素（quercetin）为甘草、仙灵脾、黄芪、牡丹皮、北沙参共有，山萘酚（kaempferol）为甘草、仙灵脾、黄芪、牡丹皮共有，芒柄花黄素（formononetin）、异鼠李素（isorhamnetin）、毛蕊异黄酮（calycosin）、熊竹素（jaranol）均为甘草、黄芪共有，常春藤甙元（hederagenin）为黄芪、茯苓共有，豆甾醇（stigmasterol）为山茱萸、熟地、北沙参、茯苓共有，食脂素（DFV）为甘草、仙灵脾共有。

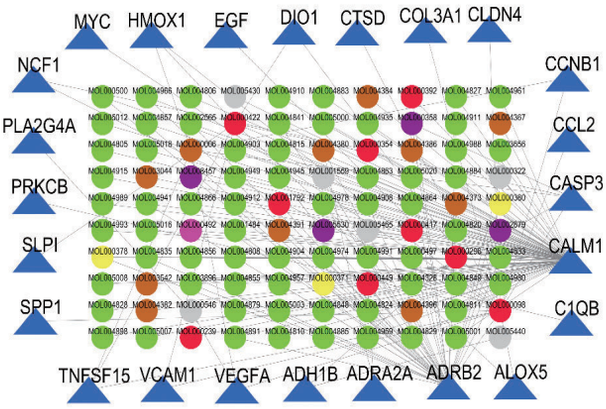


图4　中药复方调控网络图

Figure 4　Interaction network diagram of Chinese herbal compound

2.4　靶蛋白互作网络分析

在Bisogenet插件中导入仙芪消渴饮与DKD共有的24个蛋白基因，初步得到一个包括1 761个节点、36 776条边的PPI网络；运行CytoNCA插件先后按DC＞61、BC＞600对其进行拓扑分析，分别创建出包括378个节点、13 690条边和包括44个节点、454条边的两个新的子网络，后者即PPI核心网络，见图5。

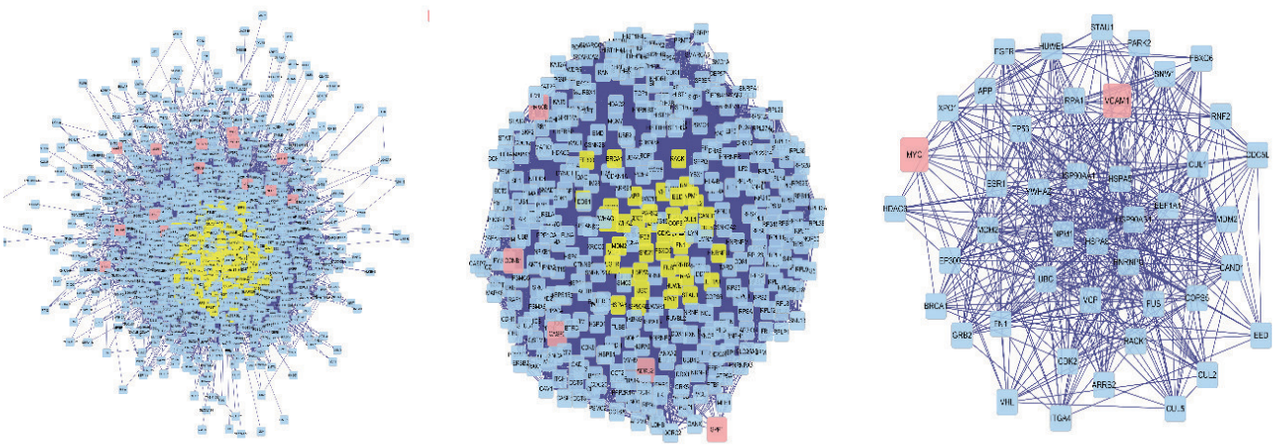


图5　PPI网络拓扑分析

Figure 5　Network topology analysis of PPI

2.5　PPI核心网络模块化分析

通过MCODE插件围绕PPI核心网络挖掘提炼出2个关键的功能模块，见图6。

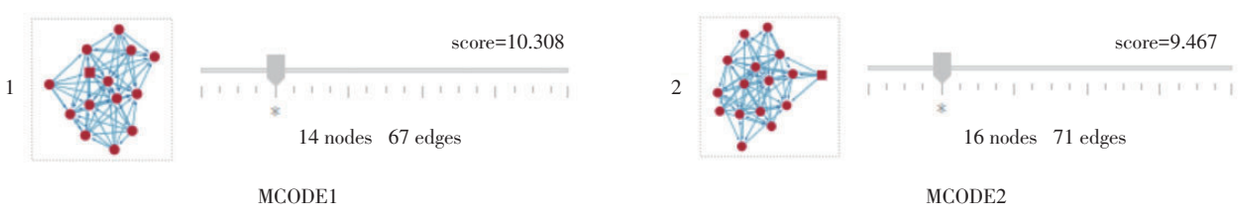


图6　PPI核心网络的2个功能模块

Figure 6　Two functional modules of PPI core network

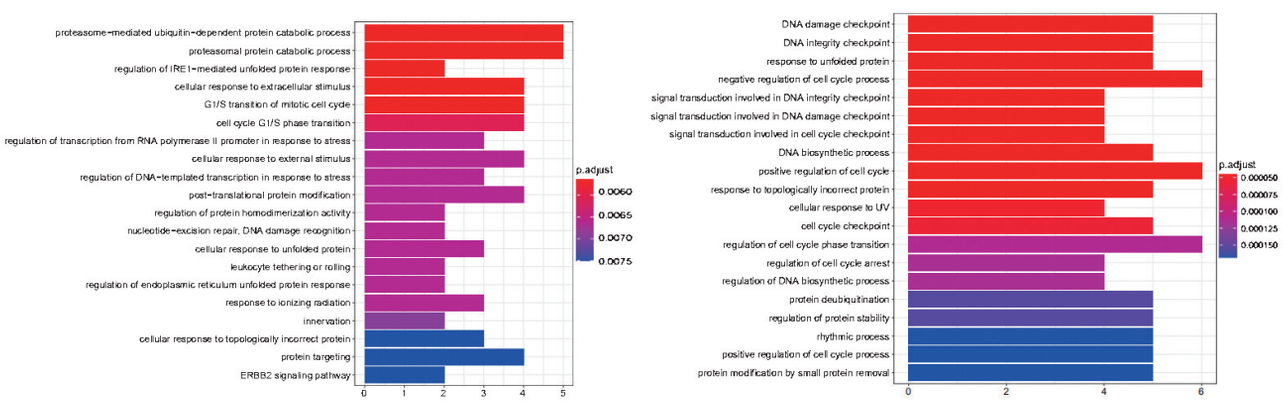
2.6　富集分析

GO分析具体结果见图7～9：功能模块1BP共涉及90个条目，主要包括蛋白酶体介导泛素依赖的蛋白质分解代谢过程（proteasome-mediated ubiquitin-dependent protein catabolic process）、蛋白酶体蛋白质分解代谢过程（proteasomal protein catabolic process）、细胞对胞外刺激的反应（cellular response to extracellular stimulus）、有丝分裂细胞周期中的G1/S信号转换机制（G1/S transition of mitotic cell cycle）、对由IRE1介导的未折叠蛋白反应的调控（regulation of IRE1-mediated unfolded

protein response)；CC共涉及17个条目，主要包括COP9信号复合体(COP9 signalosome)、黑色素体(Melanosome)、色素粒(pigment granule)、黏附斑(focal adhesion)、细胞-基底黏着连接(cell-substrate adherens junction)、细胞-基质间连接(cell-substrate junction)、cullin-环泛素连接酶复合物(cullin-RING ubiquitin ligase complex)；MF共涉及12个条目，主要包括细胞粘附分子结合(cell adhesion molecule binding)、泛素蛋白连接酶结合(ubiquitin protein ligase binding)、泛素样蛋白连接酶结合(ubiquitin-like protein ligase binding)、参与蛋白质折叠的蛋白质结合(protein binding involved in protein folding)、错误折叠蛋白质结合(misfolded protein binding)。

功能模块2BP得到535条结果，主要包括对未折叠蛋白的反应(response to unfolded protein)、DNA损伤检控点(DNA damage checkpoint)、DNA完整性检控点(DNA integrity checkpoint)、细胞周期过程的负向调节(negative regulation of cell cycle process)；CC共涉及36个条目，主要包括富含纤维胶凝蛋白-1的颗粒腔(ficolin-1-rich granule lumen)、分泌颗粒腔(secretory granule lumen)、细胞质囊腔(cytoplasmic vesicle lumen)、囊泡腔(vesicle lumen)；MF共涉及65个条目，主要包括无序域特异性结合(disordered domain specific binding)、泛素蛋白连接酶结合(ubiquitin protein ligase binding)、泛素样蛋白连接酶结合(ubiquitin-like protein ligase binding)。

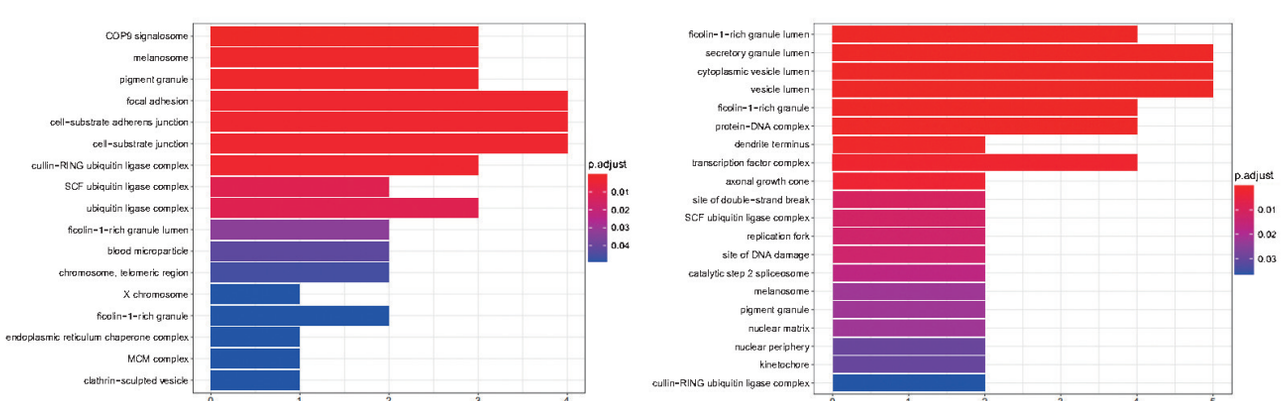
KEGG分析结果，见图10：功能模块1共富集6条通路，主要包括细胞分裂周期(Cell cycle)、泛素介导的蛋白水解作用(Ubiquitin mediated proteolysis)、PI3K-Akt信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)；功能模块2共富集28条通路，主要包括前列腺癌(Prostate cancer)、内质网蛋白加工(Protein processing in endoplasmic reticulum)、甲状腺激素信号通路(Thyroid hormone signaling pathway)、细胞分裂周期(Cell cycle)、PI3K-Akt信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)。



MCODE1　　MCODE2

图7　GO生物过程分析(前20)

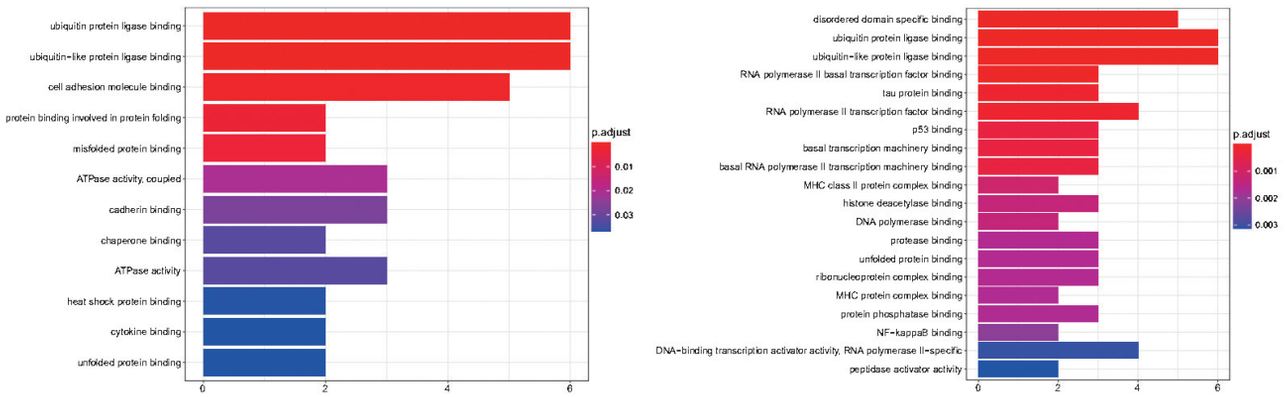
Figure 7　GO biological process analysis(top 20)



MCODE1　　MCODE2

图8　GO细胞组分析(前20)

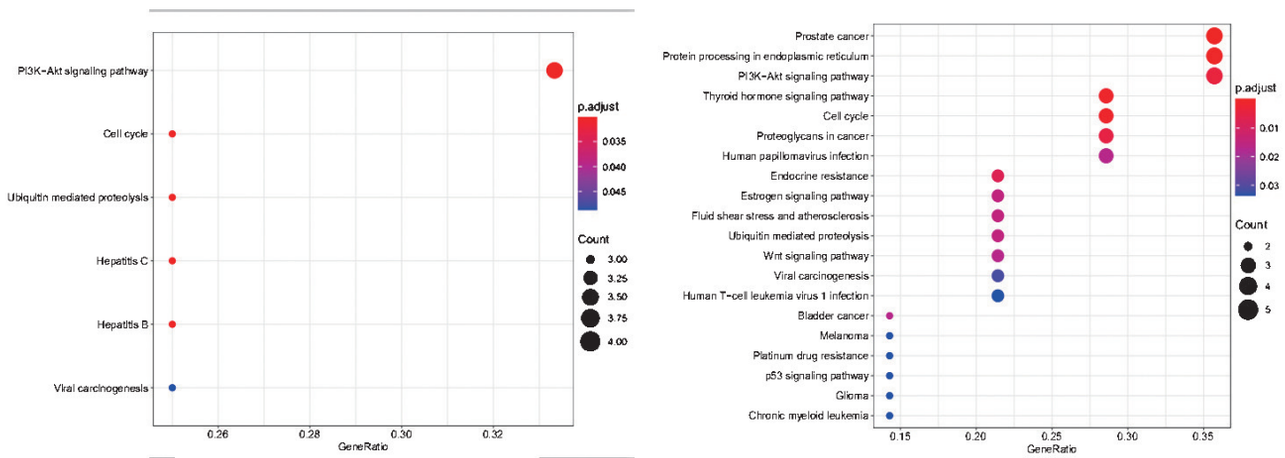
Figure 8　GO cellular component analysis(top 20)



MCODE1　　MCODE2

图9　GO分子功能分析(前20)

Figure 9　GO molecular function analysis(top 20)



MCODE1　　MCODE2

图10　KEGG分析(前20)

Figure 10　KEGG analysis(top 20)

2.7 分子对接验证

如表3所示，仙芪消渴饮药效分子与蛋白靶标(HSP90AA1、CDK2、ESR1、MDM2)的最低结合能均小于0，说明配体与受体均可以自发结合、形成最佳复合体。仙芪消渴饮可通过调节以上靶标发挥治疗作用。分子对接模式，见图11。

表3　仙芪消渴饮有效成分分子对接结果

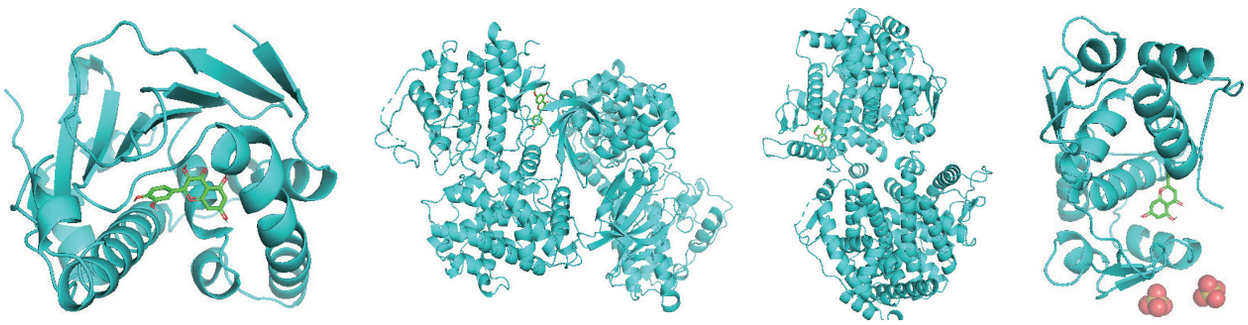
Table 3　Molecular docking results of active ingredients of Xianqixiaoke Decoction

分子对接	结合能(kcal/mol)
槲皮素(quercetin)——HSP90AA1	−9.1
熊竹素(jaranol)——CDK2	−8.4
食脂素(DFV)——ESR1	−7.8
木犀草素(luteolin)——MDM2	−8.1

3 讨论

仙芪消渴饮共涉及193个活性成分、24个关键靶点。对从PPI核心网络中挖掘出的2个模块进行富集分析剔除重复项后发现：GO分析共得到588个生物学过程、47个细胞组分、72个分子功能；KEGG分析共富集30条通路。由此可见，仙芪消渴饮通过多成分、多靶点、多通路对糖尿病肾脏病进行干预。

从中药复方调控网络可以看出，仙芪消渴饮中与作用靶点密切相关的核心药物为甘草、仙灵脾、黄芪、山药。据文献报道甘草及其有效成分可对糖尿病肾脏病起到一定防治作用：甘草的醇和水提取物都能对抗高糖刺激所诱导的肾小球系膜细胞过度增殖并易化肾小球系膜细胞基质降解[8]；甘草酸不仅能抑制氧化应激、减少肾脏细胞凋亡，还可通过调控转化因子-β1/Smads信号通路抑制高糖诱导的细胞外基质蛋白在肾小球和肾小管间质中的过度沉积，延缓DKD进展[9-10]；而甘草次酸在降低血糖、血脂、改善肾功能的同时下调肾组织层黏连蛋白、α-平滑肌蛋白的表达从而改善系膜区纤维化及肾小管萎缩[11]。仙灵脾及其有效成分可通过上调内皮NO合成酶发挥松弛血管、抑制血小板聚集和在一定程度上遏止血管平滑肌细胞过度增殖的作用[12]，还能明显改善慢性肾功能不全的症状与相关生化指标，其作用机制可能为①通过上调肾组织中超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶水平，下调丙二醛水



槲皮素-HSP90AA1　熊竹素-CDK2　食脂素-ESR1　木犀草素-MDM2

图11　仙芪消渴饮分子对接模式图

Figure 11　Molecular docking diagram of Xianqixiaoke Decoction

平，减轻氧化应激损伤；②通过下调白介素1β、白介素6及单核细胞趋化蛋白-1水平，下调炎症反应水平；③通过下调转化生长因子β、血管内皮生长因子、磷酸化p65表达，阻止肾组织纤维化；④下调caspase-3表达，抑制肾组织细胞凋亡[13]。目前已证实黄芪有利于糖尿病病人糖原合成、改善胰岛素抵抗，使机体血糖维持稳定；在此基础上，杨丽等[14]研究发现黄芪可改善肾组织免受过度表达的内皮素-1和转化生长因子β1的破坏作用，从而抑制肾小球硬化及基质堆积；宋恩峰等[15]研究发现黄芪能抑制2型糖尿病肾病大鼠的肾脏肥大及肾脏局部肿瘤坏死因子-α和血管内皮生长因子表达，从而减少蛋白尿。山药及其有效成分不仅增加胰岛素分泌、改善受损胰岛β细胞功能，还对肾功能有一定保护作用，其机制可能与抑制高糖激活的醛糖还原酶/P38丝裂原活化蛋白激酶/环磷腺苷效应元件结合蛋白信号通路有关[16]。

磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B（Phosphoinositide 3 Kinese/Protein KinaseB，PI3K/AKT）信号通路参与调控细胞的生长、增殖、凋亡、分化[17]。PI3K被激活后转变成第二信使磷脂酰肌醇-3，4，5-三磷酸（PIP3），PIP3进而将AKT活化为磷酸化AKT（p-AKT），p-AKT可通过阻断促凋亡分子Bad与Bcl-2/Bcl-xL结合而抑制细胞凋亡[18]。研究表明在糖尿病肾病进程中，通过调节PI3K/Akt通路活性，不仅能够改善肾脏足细胞表型、减轻足细胞损伤，还能在一定程度上抑制系膜细胞增生，[19]。

研究证实，亚临床甲状腺功能减退是糖尿病肾病的独立危险因素[20]。伴有亚临床甲状腺功能减退的老年糖尿病病人糖尿病肾病发生率更高，并与促甲状腺素水平呈正相关；适度补充左旋甲状腺素片，可减少蛋白尿，让糖尿病肾病进程减缓。[21]

泛素-蛋白酶体系统（ubiquitin-proteasome-system，UPS）是一种能量依赖性、高度选择性地调控蛋白质降解的重要系统[22]，又称泛素蛋白酶体通路。研究发现丝裂原活化蛋白激酶磷酸酶-1泛素化降解增加可使丝裂原活化蛋白激酶通路脱磷酸化减少、磷酸化增强，导致该通路持续活化、肾脏损伤加重，由此提示UPS参与了糖尿病肾病的发生[23]。

在GO功能分析结果中，“IRE1介导的未折叠蛋白反应的调节”“对未折叠蛋白的反应”等条目均与内质网应激（endoplasmic reticulum stress，ERS）密切相关。内质网是细胞内的重要细胞器，参与各种蛋白的加工合成。在高血糖、氧化应激、脂质代谢障碍状态下未折叠蛋白增多，当超过内质网的处理能力时导致ERS从而诱发未折叠蛋白反应[24]。IRE1为内质网Ⅰ型跨膜蛋白，ERS发生时IRE1α磷酸化，一方面通过激活转录因子XBP-1S，诱导内质网分子伴侣GRP78/CHOP的表达，增加蛋白质的折叠能力，恢复内质网正常功能，促进细胞生存；另一方面，持续的ERS可启动IRE1α-JNK通路介导细胞凋亡[25-26]。此外，相关研究表明与靶蛋白相结合的可能药效分子槲皮素、熊竹素、食脂素、木犀草素均具有一定肾脏保护作用。槲皮素不仅能调节血糖还可减轻肾小球足细胞损伤[27]；而其通过抑制高糖引起的氧化应激来保护肾单位的机制与木犀草素有异曲同工之妙[28-29]。熊竹素作用于细胞周期蛋白依赖性激酶2（CDK2），CDK2表达异常与肾小球系膜细胞增殖、肾小球硬化有关[30]。食脂素可与雌激素受体（ESR1）结合，借助激素发挥调节肾素-血管紧张素系统、改善肾脏缺血状态、减轻炎性反应、抗凋亡、维持线粒体稳态等功效[31]。

4　结论

本研究解析了仙芪消渴饮治疗糖尿病肾脏病是通过多成分、多靶点、多通路起效的可能作用机制，认为其核心药效团主要通过泛素-蛋白酶体系统、内质网应激、PI3K-Akt信号通路、甲状腺激素信号通路等途径发挥肾脏保护作用，进而为提高临床疗效及经典名方再开发提供了循证医学支撑。

（利益冲突：无）

参 考 文 献

[1] KDOQI. KDOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendations for diabetes and chronic kidney disease[J]. Am J Kidney Dis, 2007, 49(2 Suppl 2): S12-S154.
[2] American Diabetes Association. 10. Microvascular complications and foot care[J]. Diabetes Care, 2017, 40(Suppl 1): S88-S98.
[3] ZHANG LX, LONG JY, JIANG WS, *et al*. Trends in chronic kidney disease in China[J]. N Engl J Med, 2016, 375 (9): 905-906.
[4] 刘梦阳,靳冰,刘征堂. 基于临床路径数据的老年糖尿病方证用药规律研究[J]. 辽宁中医杂志,2022,49(3): 6-10,后插3.
[5] 刘梦阳,刘征堂. 基于网络药理学探讨自拟桑蚕颗粒治疗2型糖尿病的作用机制[J]. 山东中医药大学学报,2021,45(5): 695-706.
[6] 张雨,李恒,李克宁,等. 复方中药网络药理学的研究进展[J]. 中成药,2018,40(7): 1584-1588.
[7] ZHANG X, WANG DD, REN XD, *et al*. System bioinformatic approach through molecular docking, network pharmacology and microarray data analysis to determine the molecular mechanism underlying the effects of Rehmanniae Radix Praeparata on cardiovascular diseases[J]. Curr Protein Pept Sci, 2019, 20 (10): 964-975.
[8] LI J, LEE YS, CHOI JS, *et al*. Roasted licorice extracts dampen high glucose-induced mesangial hyperplasia and matrix deposition through blocking Akt activation and TGF-β signaling[J]. Phytomedicine, 2010, 17(10): 800-810.
[9] 冉喆,王玉军,王珍,等. 甘草酸对高糖诱导的小鼠肾小球系膜细胞TGF-β1/Smads信号通路的影响[J]. 宁夏医科大学学报,2021,43(4): 371-376.
[10] XU J, XIANG P, LIU LQ, *et al*. Metformin inhibits extracellular matrix accumulation, inflammation and proliferation of mesangial cells in diabetic nephropathy by regulating H19/miR-143-3p/TGF-β1 axis[J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 72(8): 1101-1109.
[11] 刘文静,南一,鲁玉梅,等. 甘草次酸对kk-Ay糖尿病小鼠早中期肾纤维化的保护作用[J]. 云南中医中药杂志,2020,41(3): 72-78.
[12] XU HB, HUANG ZQ. Icariin enhances endothelial nitric-oxide synthase expression on human endothelial cells in vitro[J]. Vascul Pharmacol, 2007, 47(1): 18-24.
[13] 赵锦,陈玮,魏杰,等. 淫羊藿苷对糖尿病肾病大鼠肾功能的保护作用及相关机制[J]. 免疫学杂志,2020,36(1): 74-79.
[14] 杨丽,胡淑芳. 黄芪对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用的探究[J]. 中外医学研究,2020,18(1): 6-8.
[15] 宋恩峰,项琼,程虹,等. 黄芪对糖尿病肾病保护机制的研究概况[C]//第二届(第21次)中华中医药学会肾病分会学术会议论文集. 北京,2008-01-01,2008: 641-643.
[16] 高子涵,李瑞芳,吕行直,等. 山药多糖对糖尿病肾病小鼠肾功能和醛糖还原酶通路的影响[J]. 中药材,2019,42(3): 643-646.
[17] CHEN XD, CHEN QW, WANG L, *et al*. Ghrelin induces cell migration through GHSR1a-mediated PI3K/Akt/eNOS/NO signaling pathway in endothelial progenitor cells[J]. Metabolism, 2013, 62(5): 743-752.
[18] WANG LS, GAI PZ, XU RG, *et al*. Shikonin protects chondrocytes from interleukin-1beta-induced apoptosis by regulating PI3K/Akt signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8 (1): 298-308.
[19] 许帅,廖华君,钟玉梅,等. 中医药通过PTEN/PI3K/Akt信号通路防治糖尿病肾病的研究进展[J]. 中华中医药杂志,2019,34 (9): 4190-4192.
[20] ZHAO W, HAN C, SHI XG, *et al*. Prevalence of goiter and thyroid nodules before and after implementation of the universal salt iodization program in mainland China from 1985 to 2014: a systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2014, 9 (10): e109549.
[21] RAI S, KUMAR J A, K P, *et al*. Thyroid function in type 2 diabetes mellitus and in diabetic nephropathy[J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(8): 1583-1585.
[22] SUN-WANG JL, YARRITU-GALLEGO A, IVANOVA S, *et al*. The ubiquitin-proteasome system and autophagy: self-digestion for metabolic health[J]. Trends Endocrinol Metab, 2021, 32(8): 594-608.
[23] 杨军,马红艳,徐玲,等. 高糖对肾小球系膜细胞MKP-1蛋白表达泛素化调节的影响[J]. 中国现代医学杂志,2013,23(26): 1-4.
[24] 杨金斐,肖力,孙林. 线粒体、内质网及其紧密连接在糖尿病肾病发病机制中的研究进展[J]. 中华医学杂志,2021,101(10): 750-754.
[25] 郭兆安,孙丽娜. 内质网应激及药物干预对糖尿病肾病足细胞损伤的作用[J]. 中华肾病研究电子杂志,2021,10(2): 96-99.
[26] 兰天,刘巍梦,邹阳,等. 硫辛酸调节糖尿病大鼠肾脏内质网应激、足细胞蛋白表达及JNK通路的实验研究[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(21): 2248-2251.
[27] 靳英丽,屈智慧,杨盼盼,等. 槲皮素对糖尿病大鼠肾脏足细胞nephrin和podocin表达的影响[J]. 中国实验诊断学,2019,23 (3): 519-522.
[28] 宋其蔓,徐新禹,徐林松. 槲皮素减轻高糖条件下人肾小球内皮细胞损伤的实验研究[J]. 临床和实验医学杂志,2020,19(3): 256-260.
[29] 赵家玲. 木犀草素激活Nrf2途径对高糖环境下肾脏系膜细胞的保护作用[D]. 南京: 南京中医药大学,2014.
[30] 赵景宏,黄唯麟,杨惠标,等. 体外培养肾小球系膜细胞CDK_2表达变化的实验研究[J]. 重庆医学,2003,32(12): 1684-1685.
[31] MA HY, CHEN S, DU Y. Estrogen and estrogen receptors in kidney diseases[J]. Ren Fail, 2021, 43(1): 619-642.

(2021-09-25 收稿,2022-07-04 修回)