

基于网络药理学的头花蓼防治结石潜在成分分析

魏琳, 李军, 黄颖, 张丽艳, 吴琼, 茅向军*

贵州省中医药大学药学院, 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: 在网络药理学的基础上预测苗药头花蓼防治肾结石机制原理。方法: 文献查询头花蓼作用成分录入TCMSP库筛选具体活性和靶标; Uniport数据库检索KS (肾结石)相关靶标基因; 用维恩分析交集出药-疾病的交集基因; 使用Cytoscape3.9.1构图软件表示出药物-成分对应关系、成分-疾病对应关系; 使用STRING数据库构建交集基因PPI互作网络, 导入Cytoscape利用BC排序靶点; 将交集基因作GO、KEGG富集通路分析。结果: 整理得到头花蓼可能治疗肾结石的6个活性成分, 6个成分对应了100个基因靶点, 与结石患病基因3949个基因交集出77个, PPI结果按照度值大小排名前10位的靶点分别为AKT1、TP53、PTGS2、TNF、EGF、MAPK1、EGFR、CASP3、MMP9、CCND1; AGE-RAGE信号通路、IL-17信号通路是头花蓼防治结石的主要通路。结论: 头花蓼防治肾结石网络药理学预测结果在AGE-RAGE信号通路、IL-17信号通路, AKT1、TP53、PTGS2、TNF、EGF、MAPK1、EGFR、CASP3、MMP9、CCND1为关键基因靶点。

关键词

头花蓼, 肾结石, 网络药理学, 通路机制

Analysis of Potential Components of Stone Prevention and Control Based on Network Pharmacology

Lin Wei, Jun Li, Ying Huang, Liyan Zhang, Qiong Wu, Xiangjun Mao*

College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

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

*通讯作者。

文章引用: 魏琳, 李军, 黄颖, 张丽艳, 吴琼, 茅向军. 基于网络药理学的头花蓼防治结石潜在成分分析[J]. 药物资讯, 2023, 12(2): 114-120. DOI: 10.12677/pi.2023.122015

Abstract

Objective: To predict the mechanism principle of preventing kidney stones based on network pharmacology. **Methods:** To select the specific activities and targets; Uniport database for KS (kidney stones); analyze drug-disease intersection genes; Cytoscape3.9.1 drug-component composition software; construct PPI interaction network using the STRING database, and import Cytoscape for BC sorting targets; use intersection genes as GO and KEGG enrichment pathway analysis. **Results:** Six active components, 6 components correspond to 100 gene targets, and 77 intersections with 3949 genes. The top 10 targets of PPI were AKT 1, TP 53, PTGS 2, TNF, EGF, MAPK 1, EGFR, CASP 3, MMP 9, CCND 1; AGE-RAGE signaling pathway and IL-17 signaling pathway are the main pathways for prevention of stones. **Conclusion:** The results of network pharmacology are found in AGE-RAGE signaling, IL-17 signaling, AKT 1, TP 53, PTGS 2, TNF, EGF, MAPK 1, EGFR, CASP 3, MMP 9, and CCND 1.

Keywords

Polygonum, Kidney Stone, Network Pharmacology, Pathway Mechanism

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

临床上泌尿系统结石常常根据其生长部位命名,称为肾、输尿管、尿道、膀胱结石。结石患者在临床上表现症状为肾部绞痛,排尿刺痛异常、会阴部位疼痛难忍,更甚者则还表现出胃部疼痛、头晕虚汗发热。上述病变结石种类中,以发病率、患病人数、复发率进行比较,肾结石(kidney stone)最为突出常见,根据学者在 NHANESII、NHANESIII 的两期调查数据分析知,全球 1976~2010 年含盖 34 年的结石患病率增加了 8.6%,2010 年肾结石病变的加权患病率更是增加到 8.8%,并且随着年龄的增长男性相较于女性而言更容易患 KS 其次是 18~8 岁男性的 60.79%,11~5 岁男性的 40.59%,5~1 岁的男性的 20.39% [1]。

在大量的临床观察案例中,我们不难发现患有尿路结石的患者还伴随尿路感染、堵塞,两者之间存在联系,即当尿路感染后产生的细菌以及感染后坏死的组织成为产生结石的核心,异物阻碍尿路通畅,使得尿液沉积,其中杂质以及钙离子浓度增加,促成尿路初结石的进一步增大,结石增大后停留在尿管中,尿液的冲刷划伤尿路壁再次导致发炎产生细菌感染,如此形成闭环一步步不断循环。因此尿路感染、堵塞等局部因素也是结石产生过程中的危险性因素,而头花蓼通淋作用极强的同时也是一味很好的消炎药。

近年来,随着数字时代的来临,网络药理学顺势而生并以极快的发展速度在中医药领域铺开,网络药理学实现了成分-基因之间连成对应的互作网络,联合现代化的分析技术微观上将目标药物和目标疾病联系起来,形成了组分-靶点的网络新模式,本研究部分同理,运用网络药理学方法对苗药头花蓼防治草酸钙结石的活性部位以及潜在作用靶点通路,为临床应用提供科学的参考资料,同时丰富扩大我国苗药这块瑰宝的应用空间。

作为黔地常用药,头花蓼被主要用在泌尿系统感染不适、排尿不畅,现代医药学科技对其治病原理分析知,其头花蓼含有大量酚类成分,是非常好的消炎抗菌类药物,在临床上通常协同抗菌药联用。现将头花蓼联合网络药理学在治疗结石方面进行分析预测,为头花蓼药材的后续研究提供参考依据[2]。

2. 方法

2.1. TCMSP 数据库检索中药成分整理

以中国知网为检索库，分别以“头花蓼”、“头花蓼成分”为关键检索词，限制近 10 年为检索时限筛选苗药头花蓼现阶段被分析出的所有有记载的化学成分，将整理出的成分逐一录入 TCMSP 平台，从平台导出数据后，用 EXCEL 以 $OB \geq 30\%$ 、 $DL \geq 0.18$ 为条件选出头花蓼成分中具有潜在制药可能性的成分。

2.2. 苗药头花蓼有效成分作用靶点整理

“2.1”挑选出头花蓼成分中具有潜在制药可能性的成分，整理出对应靶点蛋白，将成分对应蛋白输入 UniProt 数据库转化出对应人类基因靶点，并使用软件 Cytoscape 表示出药物—成分对应关系。

2.3. KS 靶基因检索

基于现存基因数据库 DrugBank、GeneCards 输入“结石”为关键词，得到结石对应基因，使用 EXCLE 去除重复项，获得与肾结石疾病相关的基因靶点，使用维恩分析法得到头花蓼防治肾结石潜在的作用靶点，并使用 Cytoscape 关系网络图。

2.4. 蛋白互作网络构建

将苗药头花蓼和结石患病基因进行维恩交集分析，所得基因录入 string 数据库得出蛋白互作关系，并保存 TSV 文件，利用 Cytoscape 中插件 CytoNCA 排序蛋白中心度，作蛋白互作图。

2.5. 基因本体功能及 KEGG 通路富集分析

将头花蓼可能治疗结石的预测基因录入 Matascope 功能注释工具中，选定物种人类，进行基因本体 GO、KEGG 富集分析，得到并保存结果。其中 P 值 Cutoff 为 0.01，并使用 Benjamin-Hochberg 方法进行 P 值校正。根据 P 值大小进行排序，绘制条形图和气泡图，分析药物治疗疾病的可能机制。

3. 结果

3.1. 头花蓼所含潜在有效成分

通过文献调研整理头花蓼化学成分共 76 个，筛选得到活性成分 6 个。靶点预测过程中，发现有 1 个成分未找到对应靶点，删除重复靶点后，则 6 种成分共获得预测靶点 100 个。根据 OB 大小进行排序，前 10 位主要活性成分及靶点数目见表 1。

Table 1. Main active components and number of targets of polygonum
表 1. 头花蓼的主要活性成分及靶点数目

编号	MOLID	英文名称	中文名称	OB%	DL	靶点数目
S2	MOL003152	Gentisin	龙胆酸	64.06	0.21	14
S4	MOL000096	(-)-catechin	儿茶素	49.68	0.24	54
S1	MOL000098	quercetin	槲皮素	46.43	0.28	154
S7	MOL000422	Kaempferol	山柰酚	41.88	0.24	63
S5	MOL002773	carotene	胡萝卜素	37.18	0.58	20
S3	MOL000006	luteolin	木犀草素	36.16	0.25	57
S6	MOL001987	β -Sitosterol	β -谷甾醇	33.94	0.7	1

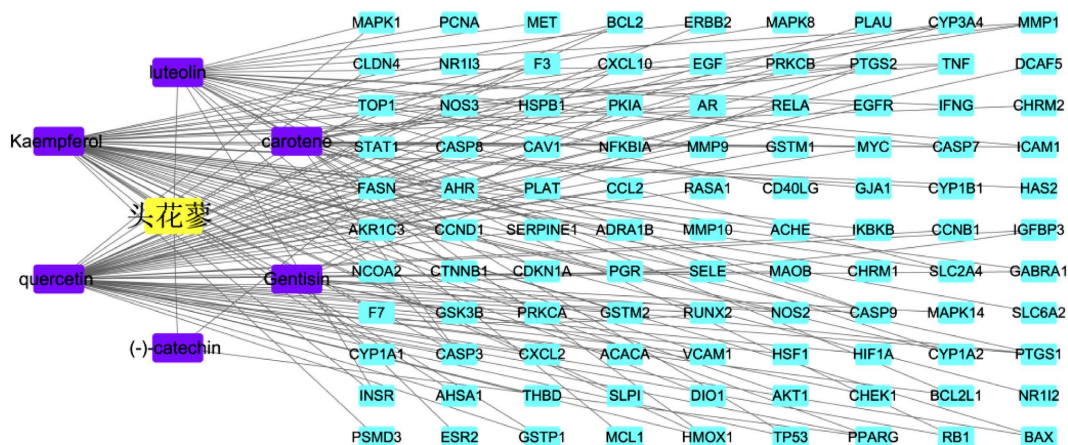


Figure 1. Active component-target network map of polygonum
图 1. 头花蓼活性成分 - 靶点网络图

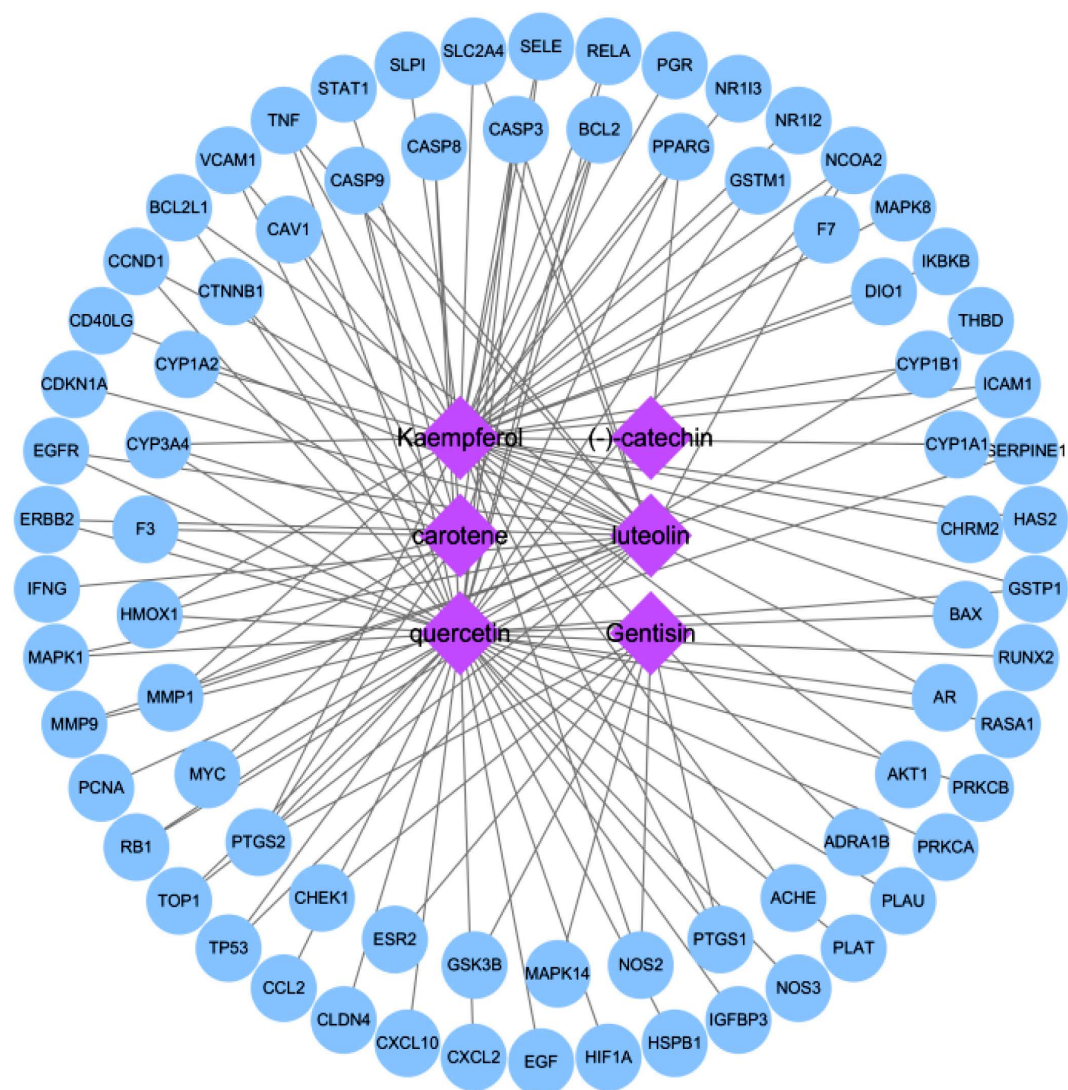


Figure 2. Network diagram of active components-potential targets
图 2. 头花蓼活性成分 - 潜在靶点网络图

研究建立了一个各个节点密切联系的头花蓼-成分网络关系图(图 1), 该网络图由 107 个节点和 161 条边线组成。通过 Network Aanalysis 得到节点度值信息。在活性成分中度值越大, 表示该活性成分对应的靶点数目越多; 而在靶点中度值越大, 表示能与该靶点发生作用的活性成分越多。

通过分析结果可以看出, 度值最高的活性成分为槲皮素, 对应的靶点有 154 个, 其次为山奈酚、木犀草素醇、儿茶素、胡萝卜苷、龙胆酸, 对应的靶点个数分别为 62、57、54、20 和 14 个。

通过表 1 与图 1 共同体现了头花蓼具有多活性成分、多作用靶点、各药物之间具有丰富共同作用靶点、可协同发挥治疗疾病作用的药理学特点。

3.2. 头花蓼治疗结石的交集靶点

“1.3”项下共得到 3949 个结石靶点, 结石基因和头花蓼靶点维恩分析得到头花蓼和结石相关联的基因有 77 个, 通过 Cytoscape3.9.1 软件构建活性成分-潜在靶点网络图(图 2)。该图中包含节点 84 个, 边线 125 条。提示头花蓼防治 KS 的作用机制可能与这 77 个潜在靶点有关。

3.3. PPI 网络

将头花蓼防治 KS 的 77 个可能基因靶点导入 string 数据库获取 PPI 关系, 再导入 Cytoscape 软件绘制 PPI 图(图 3)。经识别, 中含有 77 个点、779 条边, 平均节点度值为 20.4。由此作出度值向外逐渐减小, 颜色逐渐变浅的可视图, 整理度值排序前十的基因并列列表(表 2)其中度值大于 20.4 的靶点有 54 个。度值大小排名前 10 位的靶点分别为 AKT1、TP53、PTGS2、TNF、EGF、MAPK1、EGFR、CASP3、MMP9、CCND1。推测这 10 个靶点头花蓼治疗结石的关键靶点。

Table 2. Potential target information of mulberry white bark (degree > 20.4)

表 2. 桑白皮部分潜在靶点信息(度值大于 20.4)

编号	靶点	度值	Unirpot ID
1	AKT1	55	P31749
2	TP53	48	P04637
3	PTGS2	46	P35354
4	TNF	45	P01375
5	EGF	44	P01133
6	MAPK1	43	P28482
7	EGFR	43	P00533
8	CASP3	41	P42574
9	MMP9	38	P14780
10	CCND1	37	P24385

3.4. GO、KEGG 富集分析

GO 分析主要从基因的生物学过程 BP、细胞组分 CC 和分子功能 MF 几个方面提供了详细的基因功能注释。通过 GO 富集图分析可知, 在生物学过程中头花蓼可能会参与脂多糖、细胞凋亡增殖、同时细菌起源分子、氧化应激等生物过程可能是头花蓼用于防治结石过程中参与的生物过程; 在细胞组分间头花蓼涉及细胞膜筏、细胞膜微区、细胞质膜腔隙、细胞核膜同时还可能参与转录复合物调节; 头花蓼还可能参与转录因子、蛋白酶的结合功能, 以及调节核受体活性。在 KEGG 富集图显示头花蓼可能通过脂

质动脉粥样硬化、流体剪切应力与动脉粥样硬化、丙型和乙型肝炎、疱疹和巨细胞病毒感染、前列腺和胰腺感染以及 IL-17 这几个信号通路来影响 KS (见图 4)。

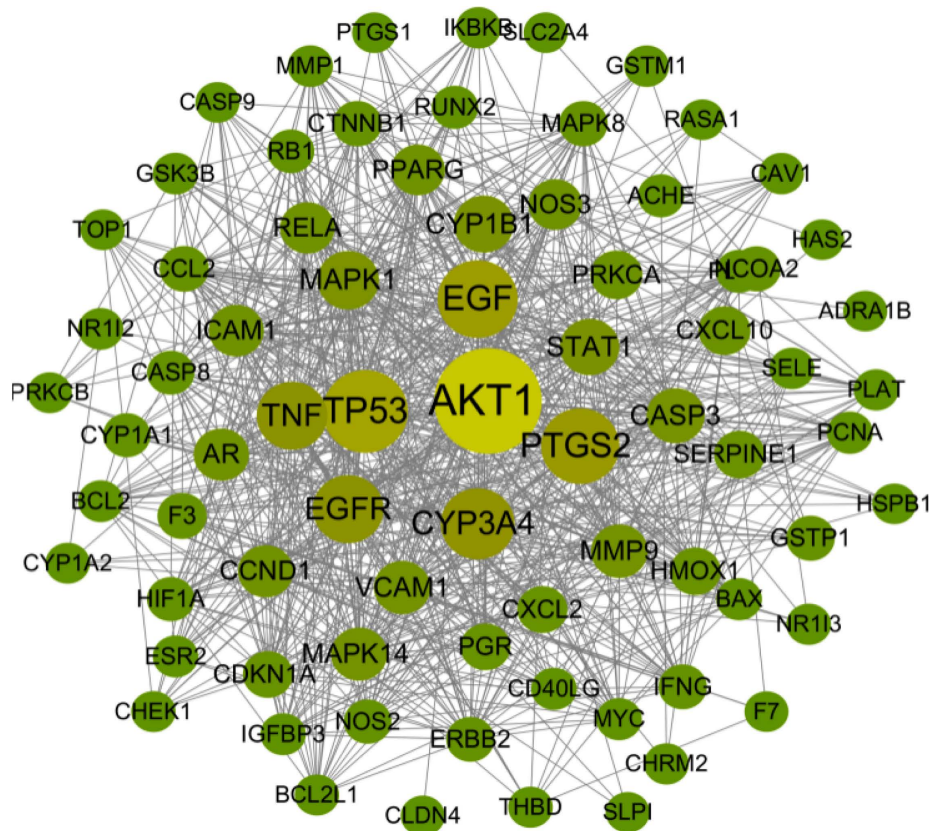


Figure 3. PPI network, a key target for the treatment of KS
图 3. 头花蓼治疗 KS 的关键靶点 PPI 网络

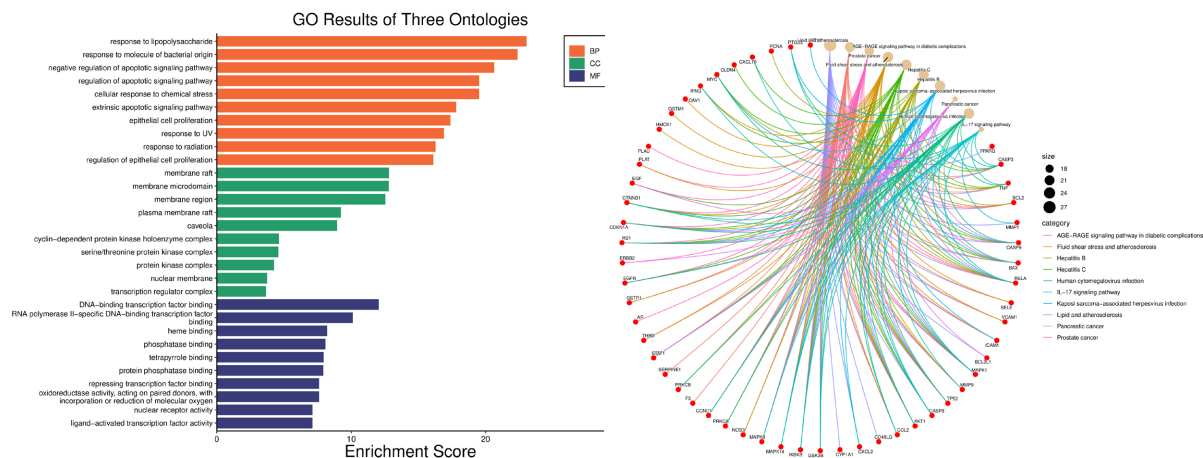


Figure 4. GO and KEGG enrichment pathway of potential genes for stone control
图 4. 头花蓼防治结石潜在基因 GO、KEGG 富集通路图

4. 讨论

使用网络药理学对头花蓼防治结石的可能性机制进行预测，并选出潜在机制通路作为临床上使用头

花蓼“利尿通淋”干预结石生长和复发提供科学依据。

预测得到头花蓼在治疗结石上可深入研发用药的 6 个活性成分，与之相关联的 77 个基因，借助 PPI 网络分析筛选到 10 个较为重要的靶点 AKT1、TP53、PTGS2、TNF、EGF、MAPK1、EGFR、CASP3、MMP9、CCND1。GO 分析主要涉及细胞因子信号转导通路、对脂质反应、细胞凋亡；KEGG 通路分析头花蓼涉及动脉硬化、前列腺癌变、疱疹病毒感染、细胞毒感染、IL-17 几个信号通路。

PPI 分析结果中提到的最重要的 AKT1 信号通路，有研究者用急性肾损伤后并发慢性生病的小鼠作为样本，得出结论 Akt1 可能和肾纤维化和肾小管细胞凋亡过程相关，因此，将来研究可考虑将 Akt1 信号传导作为抑制 AKI 到 CKD 过渡的潜在治疗靶点[3]。

有研究指出基因 TP53 在膀胱癌(BLCA)中经常发生突变或失活，TP53 突变更多，级别更高，淋巴结转移更强[4]；脂多糖诱导的 PTGS2 通过 NF- κ B 途径通过滋养层侵袭先兆子痫操纵炎症反应[5]。

头花蓼中的槲皮素、山奈酚、木犀草素醇、儿茶素、胡萝卜苷、龙胆酸等可能通过 PI3K-Akt、TNF 等相关信号通路作用于 AKT、IL-6、TNF 等靶点而起到防治 KS 作用。

综上所述，根据中药网络药理学研究方法，本文初步阐述了头花蓼防治结石潜在活性成分、可能作用靶点及信号通路。由于头花蓼对防治结石的基础研究甚少，未来将对其进行分子生物学和体内体外实验验证，为头花蓼防治结石的临床应用提供科学依据。但本研究依旧存在局限性，比如研究中所使用的数据库存在信息可能不够实时准确，导致信息收集不全面；网络药理学只是一种预测手段，在实际运用中应不断补充实验验证。

参考文献

- [1] Stamatelou, K. and Goldfarb, D.S. (2023) Epidemiology of Kidney Stones. *Healthcare (Basel)*, **11**, 424. <https://doi.org/10.3390/healthcare11030424>
- [2] 陈涛, 何磊, 林燕. 头花蓼不同提取物的抗氧化、抗炎及抗菌活性[J]. 贵州医科大学学报, 2023, 48(1): 43-47+62. <https://doi.org/10.19367/j.cnki.2096-8388.2023.01.006>
- [3] Kim, I.Y., Song, S.H., Seong, E.Y., Lee, D.W., Bae, S.S. and Lee, S.B. (2023) Akt1 is Involved in Renal Fibrosis and Tubular Apoptosis in a Murine Model of Acute Kidney Injury-to-Chronic Kidney Disease Transition. *Experimental Cell Research*, **424**, Article ID: 113509. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2023.113509>
- [4] Tao, Y., Li, X., Zhang, Y., He, L., Lu, Q., Wang, Y., Pan, L., et al. (2022) TP53-Related Signature for Predicting Prognosis and Tumor Microenvironment Characteristics in Bladder Cancer: A Multi-Omics Study. *Frontiers in Genetics*, **13**, Article ID: 1057302. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1057302>
- [5] Li, R., Xie, J., Xu, W., Zhang, L., Lin, H. and Huang, W. (2022) LPS-Induced PTGS2 Manipulates the Inflammatory Response through Trophoblast Invasion in Preeclampsia via NF- κ B Pathway. *Reproductive Biology*, **22**, Article ID: 100696. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2022.100696>