

基于数据挖掘和网络药理学探究中药治疗 IgA 肾病的核心物质及其分子机制

杨川琪¹⁾, 赵若莲¹⁾, 唐亚娟¹⁾, 刘子杰²⁾, 李 欢²⁾, 张 慧²⁾, 柴 琳¹⁾

(1) 昆明市中医院/云南中医药大学第三附属医院检验科, 云南 昆明 650500;

2) 昆明医科大学第一附属医院医学检验科, 云南 昆明 650032)

[摘要] **目的** 基于数据挖掘、网络药理学预测中药治疗 IgA 肾病(IgA nephropathy, IgAN)的机制, 通过体外实验验证。**方法** 在古今医案云平台检索治疗 IgAN 的名家医案, 筛选核心药物。在 TCMSP 等数据库检索药物靶点, 在 Genecards 等数据库中检索 IgAN 靶点, 用韦恩图取交集, 建立疾病-成分-靶点网络图。建立 PPI 网络, 进行 GO 与 KEGG 分析, 采用分子对接验证。建立 IgAN 细胞模型, 设立对照组、模型组(IgA)、不同浓度药物组(槲皮素), 采用 CCK-8 法检测各组细胞活力; ELISA 法检测各组分泌 IL-6 水平; RT-qPCR 法检测各组靶点水平。**结果** 数据挖掘得到黄芪频次最高, 达 144 次; 中药属性以寒、甘、肝、清热解毒为主。网络药理学分析出核心物质为槲皮素、山柰酚、木犀草素、汉黄芩素、异鼠李素。PPI 分析核心靶点为 *ESR1*、*IL-6*、*BCL-2*、*JUN*、*CASP3*。分子对接验证了核心物质与靶点之间有强结合力。GO 分析包含基因表达的正向调节; KEGG 富集在 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路等。实验验证了槲皮素组干预后细胞活力升高($P < 0.05$), 抑制了 IL-6 因子表达($P < 0.01$), 并上调了 *ESR1*、*BCL-2* 的 mRNA 水平($P < 0.05$), 下调 *IL-6*、*JUN*、*CASP3* 的 mRNA 水平($P < 0.05$)。**结论** 本研究筛选出治疗 IgAN 核心物质及对应靶点, 实验验证了槲皮素增强 IgA 刺激下的细胞活力, 抑制炎症因子分泌, 调节靶点水平, 为研究治疗 IgAN 分子机制提供有益参考。

[关键词] IgA 肾病; 数据挖掘; 网络药理学; 分子对接; 体外实验

[中图分类号] R925 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2026)06-0044-12

Core Active Substances and Molecular Mechanisms of Traditional Chinese Medicine in Treating IgA Nephropathy Based on Data Mining and Network Pharmacology

YANG Chuanqi¹⁾, ZHAO Ruolian¹⁾, TANG Yajuan¹⁾, LIU Zijie²⁾,

LI Huan²⁾, ZHANG Hui²⁾, CHAI Lin¹⁾

(1) Department of Laboratory Medicine, Kunming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine/The Third Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming Yunnan 650500; 2) Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To predict the mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) in treating IgA nephropathy (IgAN) based on data mining and network pharmacology, and to verify findings through in vitro experiments. **Methods** Medical case records for IgAN treatment were retrieved from the Ancient and Modern Medical Case Cloud Platform to screen core drugs. Drug targets were searched in databases including TCMSP, and

[收稿日期] 2025-12-09

[基金项目] 云南省中医药基础研究联合专项基金(202501AZ070001-254); 昆明市卫生科研课题(2025-11-01-025); 昆明市卫生科技人才培养项目医学技术中心卫生科研课题(2023-SW-技术-015)

[作者简介] 杨川琪(1989~), 女, 白族, 云南大理人, 医学硕士, 主管检验师, 主要从事分子生物学研究工作。

[通信作者] 柴琳, E-mail: 13648710929@163.com

IgAN targets were searched in databases such as Genecards. Venn diagrams were used to identify intersecting targets, establishing disease–component–target network maps. PPI networks were constructed, followed by GO and KEGG analysis, with molecular docking validation. An IgAN cell model was established with control groups, model groups (IgA), and drug–treated groups at different concentrations (quercetin). Cell viability was detected using CCK–8 assays; IL–6 secretion levels were measured by ELISA; target gene expression levels were detected by RT–qPCR.

Results Data mining revealed Astragalus had the highest frequency at 144 occurrences; TCM properties were predominantly cold, sweet, hepatic–targeting, and heat–clearing with detoxifying effects. Network pharmacology analysis identified core substances as Quercetin, Luteolin, Kaempferol, Wogonin and Isorhamnetin. PPI analysis identified core targets as *ESR1*, *IL–6*, *BCL–2*, *JUN*, and *CASP3*. Molecular docking verified strong binding affinity between core substances and targets. GO analysis included positive regulation of gene expression; KEGG enrichment pathways included AGE–RAGE signaling and IL–17 signaling pathways. Experimental verification showed that quercetin intervention increased cell viability ($P < 0.05$); suppressed IL–6 expression ($P < 0.01$), and upregulated *ESR1*, *BCL–2* mRNA levels ($P < 0.05$), and downregulating *IL–6*, *JUN*, and *CASP3* levels ($P < 0.05$).

Conclusion This study identified core therapeutic substances and corresponding targets, and experimentally validated that quercetin enhances cell viability under IgA stimulation, suppresses inflammatory cytokine secretion, and modulates target gene expression, providing valuable insights for investigating molecular mechanisms of IgAN therapy.

[**Key words**] IgA nephropathy; Data mining; Network pharmacology; Molecular docking; In vitro experiment

IgA 肾病(IgA nephropathy, IgAN)是全球最常见的原发性肾小球疾病, 约 30%~40% 患者进展为肾纤维化(TIF $\geq$ 2 级), 最终发展为终末期肾病(end–stage renal disease, ESRD)^[1]。现代西医治疗主要包括优质护理、类固醇、肾素–血管紧张素系统抑制剂, 目的是降低蛋白尿, 控制血压和保护肾功能。然而, 西医治疗服药周期长, 预后差异大, 即使在糖皮质激素、免疫抑制剂和生物制剂治疗后, 一些患者的蛋白尿仍然没有改善^[2–4], 临床需要寻求更有前景的治疗策略。

作为中华瑰宝的中医药治疗 IgAN 历史悠久, 疗效显著, 如欧娇英的滋阴益肾方^[5], 张大宁教授的大黄附子汤^[6], 皮持衡的化裁三仁汤^[7]。在众多中医大家的经典药方中, 中医药治疗 IgAN 多以清热利湿、补益脾肾等为主^[8]。中医药治疗 IgAN 采用多靶点多机制的策略, 其灵活的方式、确切的疗效以及安全的用药等优势, 拥有着无限潜力。然而, 中医药成分复杂, 具体机制尚不清楚, 用传统一个基因对应一条通路阐述疾病机制的理论无法完全解释, 需要借助网络药理学^[9](network pharmacology, NP)的研究方法, 构建网络分析并进行可视化。因此, 为了揭示中药治疗 IgAN 的作用机制, 本研究通过收集古今医案云平台名家医案, 深入挖掘处方数据和组方特点, 联合网络药理学分析中药治疗 IgAN 的核心物质, 选择具有极强关联性的成分进行体外实验验证预测结果,

为临床提供可行的用药方案, 同时也为新药研发和应用提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 医案数据挖掘

1.1.1 数据来源 通过古今医案云平台 V2.3.9 (<https://www.yiankb.com>)进行高级检索, 使用中医病名为“尿血”“腰痛”, 西医病名“IgA 肾病”, 搜集 1994 年 11 月至 2025 年 2 月的所有名家医案数据。

1.1.2 纳入与排除标准 纳入标准: (1)有完整记录的医案; (2)符合 IgAN 诊断标准^[10]的中医临床医案; (3)中医四诊资料完整, 理法方药完备。排除标准: (1)临床观察、临床研究、动物实验、综述类医案; (2)针刺、艾灸等以中药外治法为主的医案; (3)重复医案。标准化: 参照《中国药典》(2020 年版)^[11]和《中药学》^[12], 结合云平台标准化功能, 对中药名称进行规范统一, 如“生黄芪”–“黄芪”“女贞”–“女贞子”“薏仁”–“薏苡仁”。

1.1.3 数据挖掘分析 使用古今医案云平台中的数据挖掘模块, 对所录医案使用的中药进行统计描述, 频次和属性统计, 聚类分析使用频次排在前二十位的中药, 类型选“lance 距离”, 方法选

“最长距离”，以距离 ≥ 9.5 为度。选取其中高频次的药物开展后续分析。

1.2 网络药理学分析

1.2.1 数据库 本研究网药分析使用多个数据库，分别如下：TCMSP(<https://www.tcmssp-e.com/index.php>)；Uniprot(<https://www.uniprot.org/>)；Batman-tcm(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/index.php>)；Genecards(<https://www.genecards.org/>)；OMIM(<https://omim.org>)；NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)；Venny(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>)；String(<https://string-db.org/>)；Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)；Cytoscape3.10.1(<https://cytoscape.org/>)；David(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>)；AutoDockTools(<http://autodock.scripps.edu/resources/adt>)；微生信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)。

1.2.2 中药活性成分和靶点筛选 从TCMSP和Batman-tcm数据库中分别检索17种高频中药的活性成分，以口服生物利用度 $OB>30\%$ ，类药性 $DL>0.18$ 为标准进行筛选。活性成分通过STRING数据库转换成蛋白，去重后通过Uniprot数据库筛选药物靶点。

1.2.3 疾病靶点检索 以“IgA nephropathy”为关键词，在Genecards数据库、OMIM数据库和NCBI数据库中检索IgAN涉及的靶点，整理、去重得到IgAN疾病靶点。

1.2.4 药物成分交集靶点网络图构建 将药物靶点和疾病靶点取交集，得到中药治疗IgAN的交集靶点，利用Venny软件绘制韦恩图。靶点导入Cytoscape3.10.1软件。根据度值(Degree)筛选出治疗IgAN的核心物质。

1.2.5 生物通路富集分析 生物信息学分析(gene ontology, GO)分别在细胞组分、分子功能、生物过程三个范畴将基因产物及功能进行标准化描述^[13]。京都基因基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)是对细胞内基因产物的代谢途径进行系统分析，在网络药理学中解释信号通路。通过检索出的与IgAN相关的交集靶点，用David数据库进行GO分析和KEGG分析，并对所有关键靶点的生物学功能和通路进行富集分析并可视化。

1.2.6 PPI网络构建以及核心靶点的筛选 蛋白互作(protein-protein interaction, PPI)网络是细胞中分子连接蛋白质的网络，对疾病分子机制的研究等有重要意义。将前述分析得到的交集靶点导

入String数据库中，选择蛋白种类为“HOMO SAPIENS”，进行PPI网络构建。借助Cytoscape-3.10.1导入获取的PPI数据，根据软件中Cytohubba插件功能筛选出核心靶点。

1.2.7 分子对接验证 通过PPI网络筛选出的核心靶点，利用PDB数据库检索基因相对应的蛋白，获取3D结构，使用Pymol对蛋白结构进行处理，利用AutoDockTools对重要成分与相关靶点进行分子对接。将对接复合物之间的相互作用进行可视化，复合物的三维结合模型由Pymol绘制。

1.3 实验验证

1.3.1 细胞及仪器材料 人肾小球系膜细胞(HMCs, #4200)自中国科学院动物所细胞库。重组人IgA购于北京博尔西科技有限公司；槲皮素(Sigma, 纯度 $\geq 98\%$)购于索莱宝公司；CCK-8试剂盒(K1018413)购于上海碧云天公司；ELISA-IL-6试剂盒(YJ058097)购于上海源桔公司；总RNA提取试剂(R1100, Solarbio)；2xSYBR Green qPCR Master mix(型号G3322-15)；RT First Strand cDNA Synthesis(型号G3330-100, Servicebio)购于索莱宝公司。倒置显微镜(型号CKX53, 日本Olympus公司)；微量核酸蛋白定量仪(型号FC-3100, Life Real)；实时荧光定量PCR仪(型号Mini Amp Thermal Cycler, ABI)。

1.3.2 构建IgAN细胞模型及分组 细胞复苏后在含10%胎牛血清的培养基，于37℃、5%CO₂的细胞培养箱中培养，当细胞融合达到80%以上，用胰酶消化成细胞悬液。用重组人IgA刺激HMCs建立IgAN细胞模型。实验分组为对照组(Control)：共培养HMCs；模型组(IgA)：用重组人IgA(25 μg/mL)刺激HMCs；药物组(槲皮素组)：在模型组基础上加不同浓度槲皮素(0、2、5、10、20、40、80 μM)进行干预。

1.3.3 CCK-8法检测槲皮素对IgA刺激HMCs增殖的影响 将HMCs制成细胞悬液，铺于96孔板中，密度为每孔 1×10^4 个细胞，培养24 h后，用不同浓度槲皮素(0、2、5、10、20、40、80 μM)处理0 h、24 h、48 h和72 h，加入CCK-8试剂10 μL，避光孵育4 h，检测对应时间细胞增殖活力。于450 nm测定每孔OD值，计算细胞活力，公式如下：细胞活力(%)=(药物孔OD值-空白孔OD值)/(对照孔OD值-空白孔OD值)×100%，每组实验独立进行5次。

1.3.4 ELISA检测槲皮素对IgA刺激HMCs分泌IL-6的影响 将细胞(浓度 1×10^5 /mL)按分组处

理 24 h 后, 收集各组细胞上清液, 3000 r/min 离心 10 min 取上清液, 按照试剂盒说明书检测 IL-6 水平, IL-6 标准品倍浓度依次为: 0、3、6、12、24、48 pg/mL, 于 450 nm 测定各孔 OD 值。每组实验独立进行 3 次。

1.3.5 RT-qPCR 法检测槲皮素组的 *ESR1*、*IL-6*、*BCL-2*、*JUN*、*CASP3* 的 mRNA 表达水平 将对照组、模型组、槲皮素组(20 μM)处理 24 h 后收集细胞, 使用 RNA 提取试剂盒抽提细胞总 RNA, 进行反转录得到 cDNA, 以此为模板进行 q-PCR 目的基因扩增, 以 GAPDH 为内参, 建立

溶解曲线分别检测 *ESR1*、*IL-6*、*BCL-2*、*JUN*、*CASP3* 的 mRNA 表达水平。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因 mRNA 表达水平, 每组实验独立进行 3 次, 引物序列见表 1。

1.4 统计学分析

统计分析使用 Graphed Prism 6。数据使用 Shapiro-Wilk 法进行数据正态性检验。计量资料服从正态分布采用均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述, 两组资料间比较采用 *t* 检验, 多组资料间比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

表 1 RT-qPCR 引物序列
Tab. 1 RT-qPCR primer sequence

基因	正向引物序列(5'-3')	反向引物序列(5'-3')	引物长度(bp)
<i>ESR1</i>	GCCAGCTATGACATGAACGG	CTGGGGTTGTTGTCACCTGGT	21/20
<i>IL-6</i>	ACTCACCTCTTCAGAACGAATTG	CCATCTTTGGAAGGTTTCAGGTTG	23/23
<i>BCL-2</i>	AGAACTGCAGGTGCTGGATTTA	TAGATTTGTCTCCACAGCCACC	22/22
<i>JUN</i>	GCGGACCTTATGGCTACAGT	GGTGAGGAGGTCCGAGTTCT	20/20
<i>CASP3</i>	TGACATCTCGGTCTGGTACA	ACATCACGCATCAATTCCACA	20/21
<i>GAPDH</i>	CTGGGCTACACTGAGCACC	AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG	19/21

2 结果

2.1 数据挖掘结果

根据检索规则, 在古今医案云平台共检索出 IgAN 医案 272 篇, 根据纳排标准, 排除 43 篇, 余下 229 篇。进行频次分析, 共计入药物 649 种, 药物总使用频次 3299 次。其中, 排名前五的药物为黄芪、土茯苓、白术、白茅根、丹参。黄芪占比最高, 频次达到 144 次, 频次 ≥ 20 的中药列表, 见表 2、图 1A。从中药属性来看, 四气以寒为主, 见表 3、图 1B。五味以甘为主, 见表 3、图 1C。归经以肝为主, 见表 4、图 1E。药物功效以清热解毒为主, 见表 4、图 1D。

中药聚类分析显示 3 个聚类。第 1 类: 当归、川芎、女贞子、旱莲草、丹参、生地; 第 2 类: 泽泻、山药、山茱萸、白茅根、小蓟、地黄; 第 3 类: 甘草、白花蛇舌草、黄芩、柴胡、党参、黄芪、土茯苓、白术, 见图 1F。

2.2 核心中药治疗 IgAN 机制研究

2.2.1 中药活性成分和靶点筛选 根据 2.1 数据挖掘得到 17 味核心中药, 通过 TCMSP 数据库检索其化学成分, 依据 OB ≥ 30%, DL ≥ 0.18 进行筛

选。利用 TCMSP、BATMAN-TCM 数据库查询所有中药活性成分的作用靶点共 2894 个, 通过 UniProt 数据库对得到的靶点进行标准化, 删除重复值后得到 282 个活性成分的靶点。

2.2.2 疾病靶点检索 以 “IgA nephropathy” 为关键词, 分别在 Genecards 数据库检索到 2756 个靶点, 在 OMIM 数据库检索得到 37 个靶点, 在 NCBI 数据库得到 273 个靶点, 整理所得靶点并去重后, 得到 IgAN 相关靶点 2781 个。

2.2.3 药物-疾病交集靶点 上述中药靶点和疾病靶点交集得到韦恩图, 交集靶点为 182 个, 这些靶点可能是疾病作用的潜在靶点, 见图 2。

2.2.4 药物成分交集靶点网络图 Cytoscape3.10.1 构建药物-成分-交集靶点网络图, 见图 3。该网络由 342 个节点(17 味中药、143 个活性成分、182 个交集靶点)和 2149 条边组成(边表示药物-活性物质、活性物质-靶点之间的作用关系)。Q17 槲皮素(Quercetin)、DS9 木犀草素(Luteolin)、DZ4 山柰酚(Kaempferol)、CZ1 汉黄芩素(Wogonin)、HQ5 异鼠李素(Isorhamnetin)是对应靶点数量较多的有效成分, 即核心活性物质, 见图 3。同时使用 Network Analyzer 分析工具验证, 活性成分的连接度(Degree)位于前五位列表, 核心靶

表 2 药物使用频次排名前 40 的中药统计(频次≥20)

Tab. 2 Statistics of the top 40 most frequently used traditional Chinese medicines (with a frequency of ≥ 20)

序号	中药	频次	平均剂量(g)	序号	中药	频次	平均剂量(g)
1	黄芪	144	28.72	21	太子参	34	16.6
2	土茯苓	87	17	22	防风	34	9.55
3	白术	84	12.51	23	茜草	34	16.29
4	白茅根	61	26.85	24	连翘	32	14.96
5	丹参	56	20.22	25	金银花	31	16.25
6	甘草	56	7.22	26	芡实	30	19.16
7	小蓟	52	21.4	27	土茯苓	28	26.42
8	黄芩	45	11.78	28	桃仁	27	13.13
9	泽泻	45	15.23	29	知母	25	10.94
10	山药	43	16.45	30	仙鹤草	25	23.26
11	女贞子	42	15	31	金樱子	25	17.05
12	生地	40	16.5	32	丹皮	25	12.38
13	当归	39	12.71	33	玄参	24	13.67
14	白花蛇舌草	38	26.38	34	白芍	23	16.07
15	地黄	38	17.94	35	益母草	22	21.11
16	党参	38	16.71	36	菟丝子	22	18
17	柴胡	38	11.21	37	杜仲	22	14.17
18	旱莲草	37	16.11	38	黄柏	21	10.82
19	川芎	35	14.4	39	山萸肉	20	14.59
20	山茱萸	35	12.97	40	牛蒡子	20	11.35

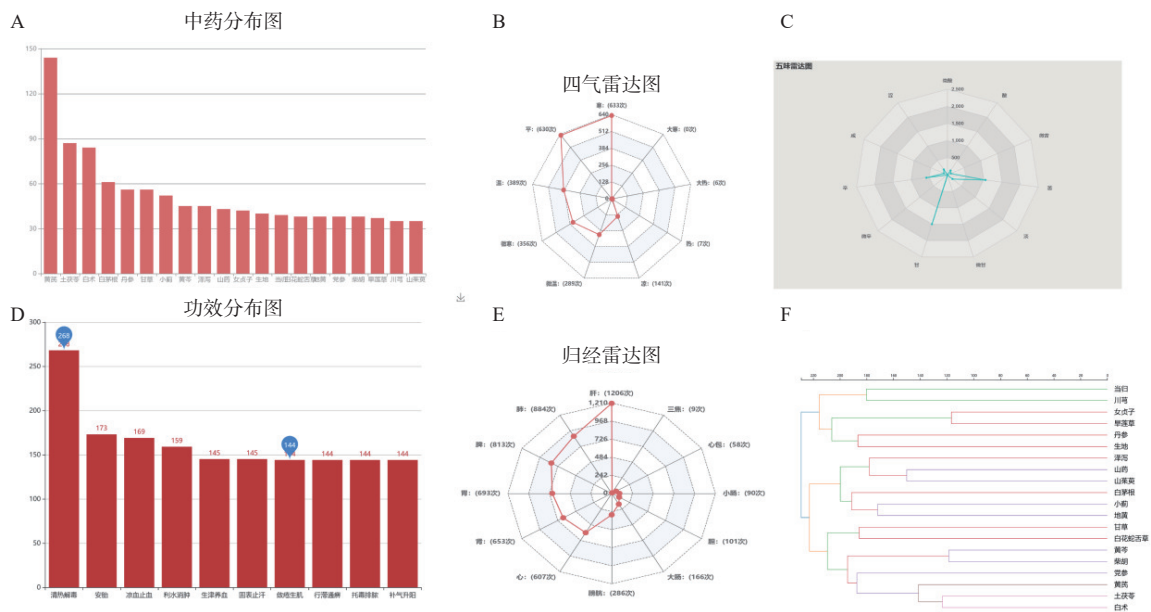


图 1 古今中药云平台数据挖掘

Fig. 1 Data mining of the Ancient and modern medical record cloud platform

A: 中药分布图; B: 中药属性四气雷达图; C: 中药属性五味雷达图; D: 药物功效分布图; E: 中药属性归经雷达图; F: 中药聚类分析。

表 3 中药属性四气、五味分析

Tab. 3 Analysis of the four natures and five flavors of traditional Chinese medicine properties

序号	四气	频次	序号	五味	频次
1	寒	633	1	甘	1499
2	平	630	2	苦	1047
3	温	389	3	辛	581
4	微寒	356	4	涩	189
5	微温	289	5	淡	184
6	凉	141	6	酸	151
7	热	7	7	咸	108
8	大热	6	8	微苦	100
9	大寒	0	9	微甘	10

表 4 中药属性归经、功效分析

Tab. 4 Analysis of the properties and meridians and effects of traditional Chinese medicine

序号	归经	频次	序号	功效	频次
1	肝	1206	1	清热解毒	268
2	肺	884	2	安胎	173
3	脾	813	3	凉血止血	169
4	胃	693	4	利水消肿	159
5	肾	653	5	生津养血	145
6	心	607	6	固表止汗	145
7	膀胱	286	7	敛疮生肌	144
8	大肠	166	8	行滞通痹	144
9	胆	101	9	托毒排脓	144
10	小肠	90	10	补气升阳	144
11	心包	58			
12	三焦	9			

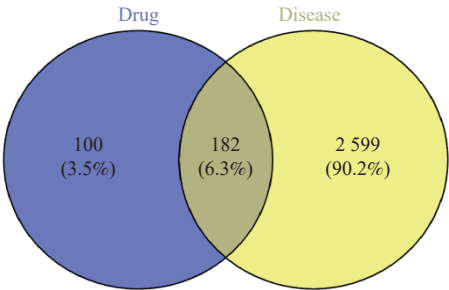


图 2 核心药物与 IgAN 疾病交集靶点韦恩图

Fig. 2 Venn diagram depicting overlapping genes associated with core Chinese herb medicine and IgAN

点的 Degree 值见表 5。值得注意的是,前期数据挖掘得到黄芪为频次最高的中药,而槲皮素作为黄芪的主成分(标注为HQ17)度值最高,边线最

密集,说明槲皮素与交集靶点关系最为密切,所以后续的体外实验选择槲皮素为核心物质进行验证。

2.2.5 GO 和 KEGG 富集分析 上述得到交集靶点,用 David 数据库进行 GO 分析和 KEGG 分析,获得 GO 分析结果 1001 条,其中生物过程(BP) 719 条,细胞组成(CC) 89 条,分子功能(MF) 192 条,以及 KEGG 富集通路 174 条。对 GO 富集分析 3 个类别中 *P*-value 值排名前十的条目及 KEGG 富集分析排名前二十的条目进行可视化,分别绘制柱状图和气泡图。结果显示,GO 分析集中在基因表达的正向调节,核质,内质网腔过程有关。KEGG 富集在 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路等,与免疫细胞浸润、细胞凋亡、组

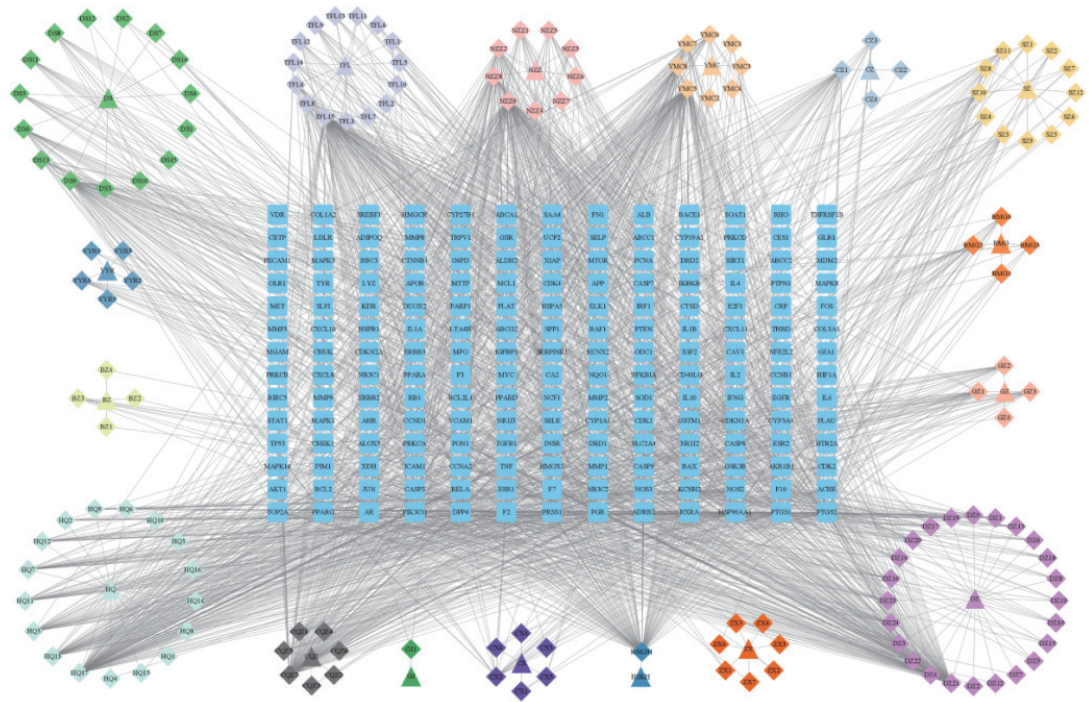


图 3 药物-成分-交集靶点网络图

Fig. 3 Drug-component-intersection target network diagram

注：蓝色矩形代表交集靶点，不同颜色三角形节点代表药物，其围绕的同种颜色的菱形代表对应的活性物质，某节点在网络中扮演的角色越重要则与其他节点连接的边数越多。

表 5 活性成分与基因靶点度值(Degree)列表

Tab. 5 List of active ingredients and gene target Degree values

药物成分	度值	基因靶点	度值
Quercetin	112	<i>ESR1</i>	23
Luteolin	50	<i>IL-6</i>	92
Kaempferol	43	<i>BCL-2</i>	19
Wogonin	34	<i>JUN</i>	22
Isorhamnetin	29	<i>CASP3</i>	22

织损伤有关，由此预测其参与了 IgAN 的免疫炎症、细胞应激和纤维化进程，见图 4A、4B。

2.2.6 PPI 网络构建 通过 String 数据库构建 PPI 网络，导入 Cytoscape3.10.1 软件处理，圆圈代表靶点，每条线代表两个靶点之间的相关性，排列顺序从中心向四周辐射，颜色越深，圆形越大相关性得分就越高，见图 5。在这些靶点中，选取了 Degree 值最高的 5 个靶点 *ESR1*、*BCL-2*、*IL-6*、*CASP3*、*JUN* 进一步研究，进行分子对接。

2.2.7 分子对接 槲皮素、木犀草素、山柰酚、汉黄芩素、异鼠李素及靶蛋白 *ESR1*、*IL-6*、*BCL-2*、*JUN*、*CASP3* 的分子对接，得出活性成分与靶点的结合能均 < -5 kcal/mol，表示配体和受体之间

的亲和力较强，并用 Pymol 进行可视化展示，见表 6、图 6。活性成分槲皮素(Quercetin)与靶蛋白 *IL-6* 的结合力最强(-7.7)，结合前述网络图中槲皮素 Degree 值最高，预测由频次最高的黄芪中筛选出槲皮素为核心物质，且分子对接与 *IL-6* 最强结合，故选择槲皮素与 *IL-6* 为代表进行后续体外实验验证。

2.3 实验验证

2.3.1 CCK-8 法检测槲皮素对 IgA 刺激 HMCs 增殖的影响 与 Control 组(HMCs)相比，IgA 组(模型组)细胞活力降低($P < 0.001$)；与 IgA 组相比，24 h、48 h、72 h 时的槲皮素组(药物组)40 μ M 和 80 μ M 细胞活力升高($P < 0.05$)；48 h、72 h 时的槲皮素组(药物组)20 μ M 细胞活力升高($P < 0.001$)，40 μ M 和 80 μ M 细胞活力升高($P < 0.05$)。由此表明，IgA 刺激下 HMCs 细胞活力下降，但槲皮素作用下细胞活力呈现恢复趋势，槲皮素对 HMCs 细胞活力的影响呈现出时间依赖性和浓度依赖性，选择有明显作用的 20 μ M、40 μ M 和 80 μ M 槲皮素浓度进行后续实验，见图 7。

2.3.2 ELISA 法检测槲皮素对刺激 HMCs 分泌 IL-6 的影响 Control 组相比，IgA 组 *IL-6* 的含量升

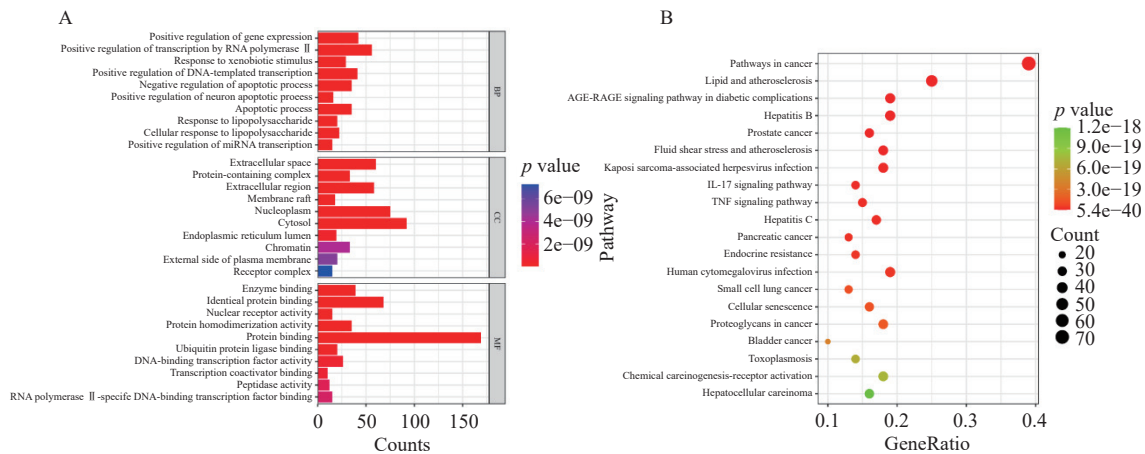


图 4 核心中药活性成分治疗 IgAN 潜在靶点富集分析

Fig. 4 Enrichment analysis of potential therapeutic targets of core Chinese herbal medicine for IgAN

A: GO 分析结果; B: KEGG 分析结果; GO 分析中 BP: 生物过程; CC: 细胞组分; MF: 分子功能; KEGG 分析中通过调整 P 值色标和基因计数点大小进行可视化。

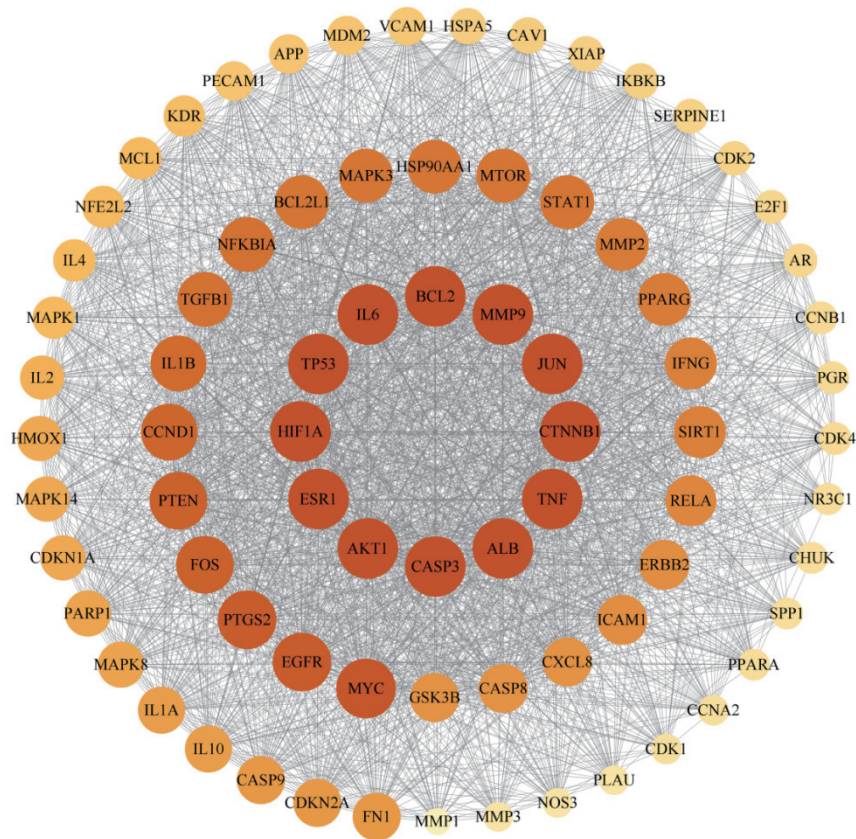


图 5 核心中药活性成分治疗 IgAN 的 PPI 网络图

Fig. 5 PPI network diagram of core active components in traditional Chinese medicine for IgAN treatment

注: PPI 网络图节点代表蛋白质, 边代表蛋白质之间的交集, 网络中的颜色和节点大小反映了整合的靶标数量(度)。

高($P < 0.001$); 与 IgA 组相比, 槲皮素组 $40\ \mu\text{M}$ 和 $80\ \mu\text{M}$ 浓度下 IL-6 的含量降低($P < 0.01$)。说明, IgA 刺激下 HMCs 分泌 IL-6 升高($P < 0.05$), 槲皮素组以剂量依赖的方式抑制 IL-6 的分泌, 具有抗炎作用, 见图 8。

2.3.3 RT-qPCR 法检测槲皮素对 IgAN 细胞组的 $ESR1$ 、 $BCL-2$ 、 $IL-6$ 、 $CASP3$ 、 JUN 的 mRNA 表达的影响 与对照组相比, 模型组中 $ESR1$ 、 $BCL-2$ 的 mRNA 表达水平降低($P < 0.01$), 模型组中 $IL-6$ 、 $CASP3$ 、 JUN 的 mRNA 表达水平升高($P <$

表 6 核心活性成分与核心靶蛋白的对接结果(kJ/mol)

Tab. 6 Docking results of core active components and core target proteins (kJ/mol)

活性成分	ESR1	IL-6	BCL-2	JUN	CASP3
Quercetin	-7.4	-7.7	-6.9	-5.6	-6.6
Luteolin	-7.9	-6.3	-7.1	-5.7	-7.1
Kaempferol	-7.4	-6.4	-7.5	-5.5	-6.8
Wogonin	-7.7	-6.1	-6.9	-5.4	-6.8
Isorhamnetin	-7.5	-5.9	-7.4	-5.4	-7.5

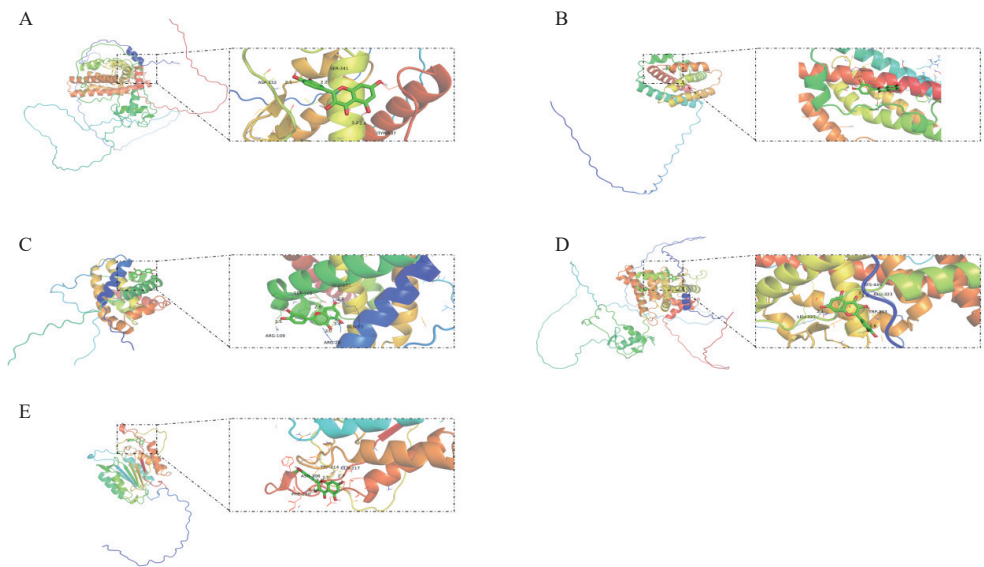


图 6 活性成分与核心靶蛋白的三维分子对接结构图

Fig. 6 3D molecular docking structure diagram of active ingredients and core targets.

A: Quercetin 和 ESR1 对接; B: Quercetin 和 IL-6 对接; C: Luteolin 和 BCL-2 对接; D: Kaempferol 和 ESR1 对接; E: Isorhamnetin 和 CASP3 对接; 左侧为蛋白质全貌, 右侧为化合物结合位点放大, 黄色虚线代表化合物和蛋白质之间形成的氢键。

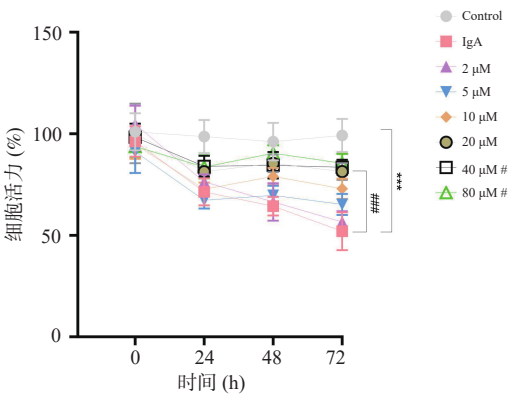


图 7 CCK-8 检测槲皮素不同时间点不同浓度组对 IgA 刺激 HMCs 增殖的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Fig. 7 CCK-8 assay detecting the effects of Quercetin at different concentrations and time points on IgA-stimulated HMC proliferation ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

IgA 组与 Control 比较, $***P < 0.001$; 槲皮素组与 IgA 组比较, $^{\#}P < 0.05$; $^{###}P < 0.001$ 。

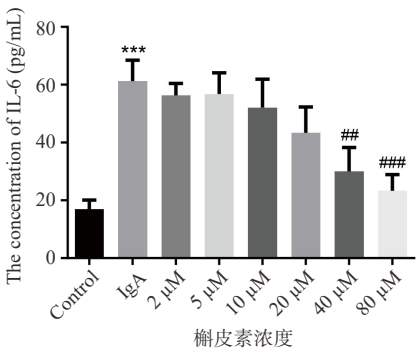


图 8 ELISA 检测槲皮素不同浓度组对 IgA 刺激 HMCs 分泌 IL-6 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 8 Effects of different concentrations of quercetin on IL-6 secretion by IgA-stimulated HMCs detected by ELISA($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

IgA 组与 Control 比较, $***P < 0.001$; 槲皮素组与 IgA 组比较, $^{##}P < 0.01$; $^{###}P < 0.001$ 。

0.05); 与模型组相比, 槲皮素组中 *ESR1*、*BCL-2* 的 mRNA 表达水平升高 ($P < 0.05$), 槲皮素组中

IL-6、*CASP3*、*JUN* 的表达水平降低 ($P < 0.05$), 见图 9。

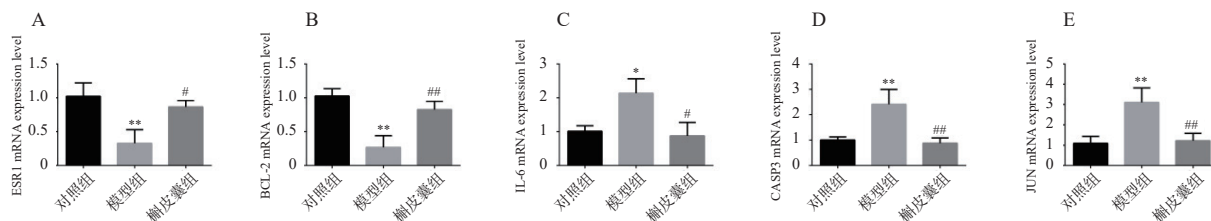


图 9 RT-qPCR 检测槲皮素对 IgA 刺激 HMCs 中 *ESR1*、*BCL-2*、*IL-6*、*CASP3*、*JUN* 的 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)
Fig. 9 RT-qPCR detection of mRNA expression levels of *ESR1*、*BCL-2*、*IL-6*、*CASP3* and *JUN* in IgA-stimulated HMCs treated with quercetin ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

A: *ESR1* 的 mRNA 表达水平; B: *BCL-2* 的 mRNA 表达水平; C: *IL-6* 的 mRNA 表达水平; D: *CASP3* 的 mRNA 表达水平; E: *JUN* 的 mRNA 表达水平; 模型组与对照组比较, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; 槲皮素组与模型组比较, # $P < 0.05$; ## $P < 0.001$ 。

3 讨论

IgAN 是以 IgA 为主的免疫复合物在肾小球系膜区沉积的一种疾病。中医学中 IgAN 归属为“尿血”“尿浊”的范畴。IgAN 病机复杂, 医家多认为属本虚标实^[14]。本研究利用名家医案的方剂数据, 首先对治疗 IgAN 的中药进行数据挖掘, 从中药属性来看药性平、寒, 能够利水消肿; 从药物聚类来看, 三类药物组合蕴含了四物汤^[15], 六味地黄丸^[16], 小柴胡汤^[17]等方义, 分别侧重养血活血, 清热利尿, 利水渗湿的治法, 反映中医治疗 IgAN 的组方配伍及辨治思路。其次, 对归经中药进行频次统计, 最高的是黄芪, 已有学者认为黄芪可以缓解糖尿病肾病损伤, 具有减轻蛋白尿, 保护足细胞, 抗肾纤维化作用^[18]。而中药黄芪含多种物质, 为了进一步探究哪种物质起作用, 本研究通过网络药理学, 筛选出关键物质为槲皮素、木犀草素、山柰酚、汉黄芩素、异鼠李素; 核心靶点包括 *ESR1*、*IL-6*、*BCL-2*、*JUN*、*CASP3* 等。

核心靶点涉及到激素信号、炎症反应、细胞凋亡等多个生物学过程。其中 *ESR1* 是一种核转录因子, 能够编码雌激素的受体, 通过 *ESR1* 信号通路, 对肾脏有保护作用^[19]。基因 *IL-6* 是肾病炎症反应的驱动因子, 诱导急性期蛋白和促炎因子的表达, 下调 *IL-6* 可以降低炎症级联反应, 降低肾病活动性和严重程度^[20], 后续实验正是以靶蛋白 *IL-6* 为效应分子, 验证了 *IL-6* 与 IgAN 相关性。*JUN* 能响应多种刺激, 如细胞因子、应激反应, 在 IgAN 疾病中成为应激与炎症的信号枢纽, 可以整合多种损伤信号, 转化为病理性基因表达^[21]。*BCL-2* 编码抗凋亡蛋白, 调节足细胞凋亡

信号, 模拟 *BCL-2* 功能已成为治疗肾病的潜在策略, 旨在通过抑制病理性肾细胞凋亡来延缓疾病进展^[22]。*CASP3* 与凋亡相关, 其活性水平直接反映了组织凋亡程度, 检测肾组织或尿液中的 *CASP3* 活性可以作为肾小管损伤程度的标志物^[23]。本研究中, 核心物质槲皮素干预下, *ESR1*、*BCL-2* 表达水平升高, *IL-6*、*JUN*、*CASP3* 表达水平降低, 表明槲皮素可能通过刺激细胞增殖、凋亡, 负向调节炎症反应, 氧化应激来治疗 IgAN。

为进一步阐明核心物质对 IgAN 的作用机制, 本研究对靶点进行 KEGG 和 GO 分析。KEGG 通路显示 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路与 IgAN 发病关系密切, 这很有可能也是槲皮素治疗 IgAN 的作用途径。研究表明 AGEs 受体激活刺激活性氧 (ROS) 产生, 使得内质网应激导致肾小球肥大、足细胞损伤^[24]。IL-17 信号通路可直接刺激系膜细胞增殖, 基质增厚, 导致肾小管上皮细胞损伤, 加速肾间质纤维化^[25]。同时, IL-17 还可增强 IgA1 的异常糖基化, 而 IgA1 沉积正是 IgAN 发病的始动因素。GO 通路涉及 miRNA 转录正向调节等生物功能。在 IgAN 中, 异常的 miRNA 转录常与炎症、缺氧等病理过程密切相关, 直接影响疾病进展。槲皮素可以通过 TGF- β /Smad3 作用促进胶原基因转录, 减轻足细胞损伤, 抑制抗纤维化 miRNA 如 miR-29^[26-27]。本研究数据挖掘得出高频中药为黄芪, 槲皮素作为黄芪主要成分, 其度值最高, 与靶蛋白 *IL-6* 结合力最强, 由此以槲皮素开展实验研究。通过细胞实验验证了槲皮素作用下, HMCs 模型 *IL-6* 降低。槲皮素下调炎症因子路径, 与 IL-17 信号通路的激活、miRNA 转录息息相关。这里网药结果与体外实验相互印证, 证实了靶点和通路预测结果的可靠性。

值得注意的是,既往研究多集中在某一方剂,而本研究对古今名家医案进行数据挖掘,从整体医案分析出黄芪为高频中药,更加系统全面。随即网药筛选出以槲皮素为代表的重要物质和核心靶点,实验验证了槲皮素调控炎症发挥保护肾病的作用机制,这与姜一凡等^[28]研究槲皮素减轻肾脏的炎症反应、细胞凋亡的结论一致,但是,既往研究多聚焦于槲皮素在糖尿病肾病中的作用^[29],或是槲皮素对阿霉素肾病^[30]、尿酸性肾病大鼠^[31]的保护作用,而对 IgAN 中的作用关注较少。与之比较,本研究在设计 and 关注点的不同,基于生信分析的系统性优势,从大量医案挖掘出高频中药(黄芪),分析出核心物质(槲皮素),并通过实验验证预测槲皮素与 IL-17 信号通路强相关性,提示通过下调炎症-抗凋亡-抗纤维化机制发挥保护 IgAN 的作用。

综上所述,本研究通过数据挖掘,采用网络药理学方法探究中药治疗 IgAN 的核心靶点、通路,并采用分子对接、CCK-8、q-PCR 进行体外实验验证。虽然未能对 IL-17 信号通路进行体内实验验证,但是本研究从名家医案整体出发,挖掘出重要意义的高频中药,客观地揭示了中医药治疗 IgAN 的用药情况和配伍思想,为临床诊疗提供用药思路。本研究通过网络药理学筛选了槲皮素为代表的核心物质和重要靶点,预测了通过炎症机制、氧化应激干预 IgAN 的重要路径。未来还会对 AGE-RAGE 信号通路、IL-17 信号通路展开研究,以期更准确的探索研究 IgAN 的中药治疗分子机制。

[参考文献]

- [1] Nogales C, Mamdouh Z M, List M, et al. Network pharmacology: Curing causal mechanisms instead of treating symptoms[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(2): 136–150.
- [2] 蔡玉媛,张荣玲,侯渊圣,等. 无症状尿检异常型 IgA 肾病患者中医证治特点及其对蛋白尿缓解的影响[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2023, 44(1): 60–68.
- [3] 李福生,王茂泓,吴国庆,等. 国医大师皮持衡运用三仁泄浊膏化裁治疗慢性肾衰竭经验[J]. *江西中医药*, 2024, 55(1): 40–42.
- [4] 刘创,郑京. 大黄附子灌肠汤治疗慢性肾功能衰竭疗效观察[J]. *现代中西医结合杂志*, 2010, 19(12): 1480–1481.
- [5] 欧娇英,蔡浙毅,刘琨. 滋阴益肾方治疗 IgA 肾病的临床观察[J]. *辽宁中医杂志*, 2010, 37(2): 296–297.
- [6] 楼妍,袁军,付彤飞,等. 具有免疫抑制的中成药联合西药治疗膜性肾病的网状 Meta 分析[J]. *世界中医药*, 2023, 18(3): 346–354.
- [7] 刘畅,苑天彤. 近 10 年难治性特发性膜性肾病临床研究概况[J]. *中医药临床杂志*, 2023, 35(2): 404–410.
- [8] Sarafidis P A, Memmos E, Alexandrou M E, et al. Mineralocorticoid receptor antagonists for nephroprotection: Current evidence and future perspectives[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(46): 5528–5536.
- [9] Cattran D C, Coppo R, H Terence Cook et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: Rationale, clinicopathological correlations, and classification[J]. *Kidney Int*, 2009, 76(5): 534–545.
- [10] 湛贻璞. 肾内科学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 13–18.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 1 部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 30–451.
- [12] 钟赣生,陈蔚文,赵中振. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2019: 1–519.
- [13] 王靖. 基于 GO 的基因功能及疾病相关通路分析[D]. 成都: 电子科技大学, 2012.
- [14] 叶凌妍,吴禹池,林启展. IgA 肾病患者中医证型与临床指标相关性研究[J]. *中医学报*, 2024, 39(2): 421–427.
- [15] 史可,胡洪贞,李伟. 四物汤在治疗肾病方面的研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(8): 61–62.
- [16] 王泽,王秋虹,李晓文,等. 六味地黄丸治疗糖尿病肾病研究进展[J]. *江苏中医药*, 2019, 51(1): 86–89.
- [17] 唐靖怡,张娉娜,姜玉华,等. 小柴胡汤群方在肾脏病中的临床应用[J]. *吉林中医药*, 2022, 42(9): 1016–1020.
- [18] 方芦炜,马红珍,丁越越,等. 黄芪提取物介导 VEGF/PI3K/AKT 信号通路减缓高糖足细胞损伤的机制研究[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2025, 35(6): 514–518+528.
- [19] Chen T, Chen H, Cheng Y, et al. Integrated network toxicology and experimental validation reveal the mechanism of bisphenol A-induced kidney injury: Targeting macrophage Esr1 expression and apoptosis[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2025, 39(7): e70348.

- [20] Zhang L, Xu F, Hou L. IL-6 and diabetic kidney disease[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1465625.
- [21] Miyake T, McDermott J C. Nucleolar localization of c-Jun[J]. *FEBS J*, 2022, 289(3): 748–765.
- [22] Su L, Zhang J, Gomez H, et al. Mitochondria ROS and mitophagy in acute kidney injury[J]. *Autophagy*, 2023, 19(2): 401–414.
- [23] Li Y, Yuan Y, Huang Z X, et al. GSDME-mediated pyroptosis promotes inflammation and fibrosis in obstructive nephropathy[J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(8): 2333–2350.
- [24] Pathomthongtaweetchai N, Chutipongtanate S. AGE/RAGE signaling-mediated endoplasmic reticulum stress and future prospects in non-coding RNA therapeutics for diabetic nephropathy[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110655.
- [25] Kitching A R, Holdsworth S R. The emergence of TH17 cells as effectors of renal injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(2): 235–238.
- [26] Gao F, He X, Liang S, et al. Quercetin ameliorates podocyte injury via inhibition of oxidative stress and the TGF- β 1/Smad pathway in DN rats[J]. *RSC Adv*, 2018, 8(62): 35413–35421.
- [27] Verma S, Dutta A, Dahiya A, et al. Quercetin-3-Rutinoside alleviates radiation-induced lung inflammation and fibrosis via regulation of NF- κ B/TGF- β 1 signaling[J]. *Phytomedicine*, 2022, 99: 154004.
- [28] 姜一凡, 李小荣, 耿嘉逸, 等. 槲皮素通过抑制 HMGB1/RAGE/NF- κ B 信号通路减轻糖尿病引起的大鼠肾脏损伤 [J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(9): 1769–1775.
- [29] 孟德森, 靳英丽. 槲皮素治疗糖尿病肾病的作用机制研究进展 [J]. *实用药物与临床*, 2024, 27(2): 133–138.
- [30] 王兴红, 孙静, 马永超, 等. 槲皮素对糖尿病肾病小鼠肾脏 P2X7R/NLRP3 信号通路和纤维化的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(6): 48–53.
- [31] 宋泽宇, 李振元, 潘涛, 等. 槲皮素对阿霉素所致肾病综合征大鼠的保护作用及机制 [J]. *山东科学*, 2023, 36(4): 61–68.

征稿启事

为积极支持和推动昆明医科大学学科建设和发展, 进一步提升《昆明医科大学学报》的办刊质量, 不断扩大本刊的学术影响力, 特对高质量稿源进行广泛征集。(1)国家自然科学基金资助课题的综述类论文可以在学报正刊发表;(2)对国家自然科学基金资助课题、云南省自然科学基金资助课题及昆明医科大学“十三五”省级、校级重点学科立项建设的研究论文, 给予优先刊登。另外, 投稿时需同时附: 投稿单位证明、论文诚信承诺书以及基金项目证明。欢迎广大临床科研教学人员、硕士及博士研究生踊跃投稿。

网上投稿 <https://kyxuebao.kmmu.edu.cn>, 电话: 0871-65936489, 0871-65918142, 65922951, 65922874。

昆明医科大学学报编辑部
2026 年 1 月 1 日