

Meta 分析结合网络药理学的肾复康胶囊治疗慢性肾小球肾炎的疗效评价及其潜在作用机制研究

傅奕¹, 李鑫^{2*}, 魏林¹, 吴兆东¹, 陈帮明¹, 付义¹, 刘永芳¹(1.江西省中医肾病临床医学研究中心, 九江市中医院, 江西 九江 332000; 2.湖南中医药大学, 中医诊断学湖南省重点实验室, 中医心肺病证辨证与药膳食疗湖南省重点实验室, 长沙 410208)

摘要: 目的 结合 meta 分析与网络药理学研究策略, 评价肾复康胶囊(Shenfukang capsule, SKC)治疗慢性肾小球肾炎(chronic glomerulonephritis, CGN)的临床疗效, 并初步探索其作用机制。方法 全面检索 SKC 治疗 CGN 随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)研究的中英文文献, 基于纳、排标准, 确定定量文献, 采用 Review Manager 对纳入数据 meta 分析。基于网络药理学方法, 筛选 SKC 的化学成分及其作用靶点、疾病靶点、共有靶点等相关信息, 随后基于生物信息学技术, 进行关键通路的相关注释, 探讨 SKC 干预 CGN 潜在机制。结果 共纳入 11 项 RCTs, 合计 938 例受试者。Meta 分析显示, 在有效率、淋巴细胞亚群(CD4、CD4/CD8 升高, CD8 下降)、纤溶系统以及肾功能指标方面, 治疗组均优于对照组($P < 0.05$)。通过在线数据库共得到 27 个化学成分和 97 个潜在靶标干预的 CGN 关系极为密切, 主要涉及 AGE/RAGE 通路、脂质和动脉粥样硬化、TNF 信号通路、IL-17 信号通路等多条信号通路等分子过程。结论 SKC 干预 CGN 是多成分、多靶点、多环节的整合效应, 其机制可能通过调控自身免疫、氧化应激、炎症反应等途径而达到治疗目的。

关键词: 肾复康胶囊; 慢性肾小球肾炎; meta 分析; 网络药理学; 临床评价; 潜在机制

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)18-2367-10

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.18.011

引用本文: 傅奕, 李鑫, 魏林, 等. Meta 分析结合网络药理学的肾复康胶囊治疗慢性肾小球肾炎的疗效评价及其潜在作用机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(18): 2367-2376.

Study on Efficacy Evaluation and Potential Mechanism of Shenfukang Capsule in Treatment to Chronic Glomerulonephritis by Meta Analysis and Network Pharmacology

FU Yi¹, LI Xin^{2*}, WEI Lin¹, WU Zhaodong¹, CHEN Bangming¹, FU Yi¹, LIU Yongfang¹(1.Jiangxi Provincial Clinical Medicine Research Center of Chinese Medicine Nephropathy, Jiujiang Hospital of Chinese Medicine, Jiujiang 332000, China; 2.Hunan University of Chinese Medicine, Hunan Provincial Key Laboratory of Diagnostics of Chinese Medicine, Hunan Provincial Key Laboratory of Syndrome Differentiation of Cardio-pulmonary Disease and Chinese Medicative Diet for Food Therapy, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate clinical efficacy evaluation and potential mechanism of Shenfukang capsule(SK) in treatment to chronic glomerulonephritis(CG) based on integration meta analysis and network pharmacology research strategy. **METHODS** The Chinese and English literature of the randomized controlled trials(RCTs) about SK in treatment on CG were comprehensively searched. The quantitative literature was determined based on the criteria of inclusion and exclusion. The meta analysis of the included data was carried out by the Review Manager. The chemical components and the target of action, disease targets, common targets, and other related information of SK were screened based on network pharmacology. The key pathway was annotated, and the potential mechanism of SK intervention in CG was explored based on bioinformatics technology. **RESULTS** A total of 11 RCTs were included, which were involving 938 patients. Meta analysis showed that the effective rate, lymphocyte subsets(CD4, CD4/CD8 increased and CD8 decreased), fibrinolytic system, and renal function indexes in the therapy group were superior to those in the control group($P < 0.05$). A total of 27 chemical components and 97 potential targets extremely closely related to CG were obtained through the online database, which was related to AGE/RAGE pathway, lipid and atherosclerosis, TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, and other molecular processes. **CONCLUSION** SK intervention in CG is an integration effect of multi-component, multi-target, multi-links integration effect, mainly through the regulation of autoimmunity, oxidative stress, inflammatory response, and other ways to achieve therapeutic purposes.

基金项目: 国家自然科学基金项目(82060839); 江西省卫生健康委科技计划(20204305); 江西省中医药科研计划(2019A395)

作者简介: 傅奕, 男, 博士生, 主治医师 E-mail: 17707021828@163.com *通信作者: 李鑫, 男, 硕士, 助理研究员 E-mail: lixin20082005@163.com

KEYWORDS: Shenfukang capsule; chronic glomerulonephritis; meta analysis; network pharmacology; clinical evaluation; potential mechanism

慢性肾小球肾炎(chronic glomerulonephritis, CGN)是因免疫系统异常导致肾小球功能障碍而出现蛋白尿, 伴或不伴水肿、高血压等为主要临床症状的肾系疾病^[1]。该病起病隐匿, 随病程进展, 患者肾功能逐渐减退, 严重者常进展为终末期肾衰^[2]。当前, CGN 治疗主要以血管紧张素Ⅱ受体拮抗剂、血管紧张素转换酶抑制剂、激素、免疫抑制剂等药物控制尿蛋白为主, 虽然对部分病理类型有效, 但存在免疫低下、复发率高、感染、肝脏损伤、胃肠道反应等不良反应^[3]。因此, 目前尚缺乏理想的治疗方法手段。

肾复康胶囊(Shenfukang capsule, SKC)主要由土茯苓、藿香、槐花、益母草、白茅根组成, 具有益肾清利, 祛湿泄浊等功效^[4]。临床研究表明, SKC 可有效提高 CGN 临床疗效, 抑制炎症, 保护肾功能^[5]。然而, 当前 SKC 治疗 CGN 的单个临床研究设计和质量良莠不齐, 缺乏其临床疗效及安全性的循证证据。同时, SKC 治疗 CGN 的潜在作用机制也有待明确。

因此, 本研究拟收集 SKC 治疗 CGN 相关临床研究文献, 利用 Cochrane 系统, 全面、客观地评价其临床疗效及安全性, 为其临床合理应用提供循证证据。同时, 运用网络药理学研究策略, 初步明确 SKC 治疗 CGN 的潜在机制, 为后续运用细胞与分子生物学确证提供有益参考。

1 方法

1.1 meta 分析

1.1.1 文献检索 机器检索中国知网、维普、万方、SinoMed、PubMed、Cochrane Library 等数据库, 查找 SKC 治疗 CGN 的随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)。检索时间自建库之初至 2021 年 4 月 30 日, 并进行手工检索, 避免漏检。使用 Google、百度等搜索引擎及手工检索作为补充。

检索策略: ①中文策略: 主题词为“肾复康胶囊”; “慢性肾小球肾炎”或“慢性肾炎”或“慢性肾小球肾炎综合征”; “随机对照试验”或“临床观察”或“临床研究”; 检索式为#1(肾复康胶囊) AND #2(慢性肾小球肾炎 OR 慢性肾小球肾炎 OR 慢性肾小球肾炎综合征) AND #3(随机对照试验

OR 临床观察 OR 临床研究)。②英文策略: 主题词为“Shenfu Kang Capsules”; “Chronic glomerulonephritis” or “Chronic nephritis” or “Chronic nephritis syndrome”; “Randomized controlled trial” or “Clinical observation” or “Clinical research”; 检索式为#1(Shenfu Kang Capsules) AND #2(Chronic glomerulonephritis OR Chronic nephritis OR Chronic nephritis syndrome) AND #3(Randomized controlled trial OR Clinical observation OR Clinical research)。

1.1.2 纳入标准 ①研究类型: 纳入试验均为 RCTs, 分为对照组和治疗组。②研究对象: 纳入患者均符合《内科学》的关于 CGN 的诊断标准^[6]。③干预措施: 治疗组采用化学药物联合 SKC 治疗方案, 对照组采用单纯化学药物治疗方案。④结局指标: 以主要和次要结局指标来评价疗效。主要结局指标: 临床总有效率; 次要结局指标: 24 h 尿蛋白定量、血清肌酐、尿素氮、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、CD4、CD8、CD4/CD8、血清组织型纤溶酶原激活物(type plasminogen activator, t-PA)和纤溶酶原激活物抑制物-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1); 疗效评价参照《中药新药治疗慢性肾小球肾炎的临床研究指导原则》标准^[7]。

1.1.3 排除标准 ①综述类文献; ②一稿多投等内容重复文献; ③临床个案报道; ④非 RCT 试验和动物或细胞等非人类实验; ⑤内容与主题无关。

1.1.4 纳入文献质量评价与资料提取 由 2 位评审员根据纳入与排除标准独立地进行文献筛选、质量评价和数据提取, 如有意见分歧, 通过讨论解决或交由第三方专家协助解决。提取文献中提及的相关资料并使用 Excel 表格进行登记管理, 提取资料的内容包括研究者姓名、文献发表年份、纳入患者的一般特征及病例数、干预措施、疗效判定指标等。

纳入研究的方法学质量按 Cochrane 协作网的风险偏倚评估工具进行评价^[8]。评价内容主要为①随机分配方法的应用; ②随机隐藏的实施; ③对研究对象、治疗方案实施者盲法的实施; ④对结果测量者盲法的实施; ⑤结果数据的完整性; ⑥选择性报告; ⑦其他偏移。所纳入研究对象平均年龄、

性别、病程、观察时间等基线资料基本相似,满足统计分析条件。

1.1.5 统计分析 采用 Cochrane 协作网提供的 Review Manager 5.3 进行 meta 分析。计数资料采用比值比表示(odds ratio, OR),计量资料采用均数差(mean difference, MD),各效应量均以 95%可信区间[95%(confidence interval, CI)]表示。应用卡方检验研究对试验结果进行检验,若异质性检验结果无统计学意义($P>0.1$, $I^2\leq 50\%$),则采用固定效应模型进行数据合并分析,若研究间存在统计学异质性而无临床异质性或差异无统计学意义时,采用随机效应模型进行分析。Meta 分析检验水准为 $P=0.05$ 。

1.2 网络药理学

1.2.1 SKC 所含主要化学成分的收集及筛选 SKC 由土茯苓、益母草、藿香、槐花、白茅根组成。应用 TCMSP 数据库(<http://lsp.nwu.edu.CGN/tcmsp.php>)及 BATMAN-TCM 数据库(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)检索所有活性成分。根据研究结果,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 、类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 为限制条件进行筛选,得到 SKC 的生物活性成分。另外结合中国知网、万方、PubMed 数据库等对未能入选,但报道其有生物活性和药理作用的化学成分(联苯双酯、菲酮)也纳入候选活性化学成分,建立药物-化学成分数据集。

1.2.2 成分潜在靶点收集 本研究应用 TCMSP 数据库及 BATMAN-TCM 数据库平台检索 SKC 所有活性成分的靶基因,通过 Cytoscape 3.7.1 软件(<https://cytoscape.org/>)构建活性成分-靶点互作网络,以探究 SKC 的药理学作用机制。

1.2.3 CGN 疾病靶点筛选 设置检索词为“Chronic renal failure”,通过 GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>)及 OMIM 数据库(<https://www.omim.org/>)以 Relevance score ≥ 4.87 进行检索,筛选得到 CGN 的疾病靶点,并应用 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)筛选出人源靶点并进行标准化,获得 Swiss-Prot ID。

1.2.4 SKC 活性成分与 CGN 的共同靶点筛选及蛋白互作网络(protein-protein interaction, PPI)网络构建 明确 CGN 相关靶点与 SKC 潜在靶点之间的相互作用,应用 R 语言(<https://www.rproject.org/>)软件及 Perl 语言程序将疾病靶点与药物靶点进行交集。

应用 STRING (<https://string-db.org/>)插件构建共同靶点 PPI,将蛋白种类设置为“Homo sapiens”,将 Settings 设为“high confidence: 0.9”,其他参数保持默认设置,获得 PPI 网络。应用 count.R 插件获得共同蛋白靶点出现的频次。

1.2.5 活性成分-CGN-靶点互作网络构建 应用 Cytoscape 3.7.1 软件中 merge 功能构建活性成分-CGN-靶点互作网络。网络图中“node”代表活性成分和靶点,“edge”代表活性成分-CGN-靶点之间的相互关系。查阅文献,基于构建的网络探讨 SKC 治疗 CGN 的潜在机制。

1.2.6 Gene ontology(GO)生物功能分析和 KEGG Pathway 富集 应用 R 语言软件中 clusterProfiler GO.R 插件及 Perl 语言对活性成分与 CGN 的共同靶点进行 GO 分析,GO 分析主要用于描述基因产物的功能,包括细胞功能、分子功能和生物功能。应用 cluster Profiler KEGG.R 插件进行 KEGG Pathway 富集分析。根据富集因子值分析核心通路富集程度,探究 SKC 治疗 CGN 的可能的生物功能及信号通路机制。

2 结果

2.1 meta 分析结果

2.1.1 文献检索结果 初步检索文献 119 篇,其中中国知网 57 篇,维普 38 篇,万方 24 篇。按照纳入标准和排除标准,最终纳入文献共有 11 篇^[4-5,9-17]。所纳入 RCTs 均在中国开展,无多中心 RCTs,最早研究发表于 2015 年。文献筛选流程见图 1。

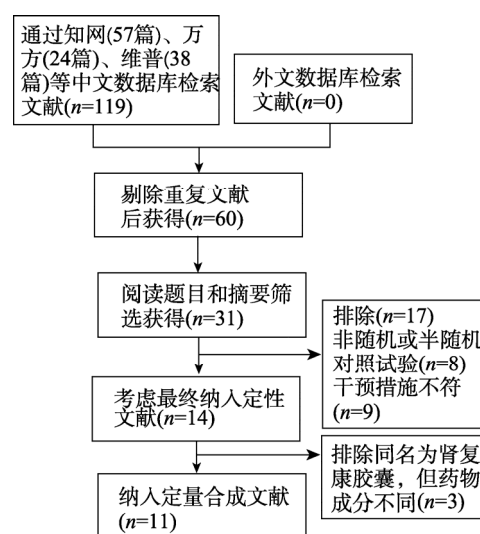


图 1 文献筛选流程

Fig. 1 Literature selection process

2.1.2 纳入研究的基本特征 本研究纳入 11 项 RCTs, 总病例数为 938 例, 其中治疗组 471 例, 对照组 467 例。治疗组和对照组最小样本量均为 31 例^[17], 最大样本量均为 53 例^[4]。所纳入的治疗组均采用 SKC 每次 4 粒, 每日 3 次口服和常规对症治疗, 对照组均采用常规对症支持治疗。纳入文献基本特征见表 1。

2.1.3 纳入文献测量指标 基于 Cochrane 协作网所提供偏倚风险评估策略, 对纳入的 11 项 RCTs 进行系统的质量评价, 评估结果采用“不清楚”“低风险”“高风险”进行描述。本研究 5 项 RCTs^[5,9,13,16-17]明确描述了以随加数字表进行随机分组, 因此给予“低风险”评价; 5 项 RCTs^[4,11-12,14-15]采用就诊顺序进行分组, 属于伪随机范畴, 给予“高风险”评价; 1 项 RCT 描述为随机的生成方式, 无法判断随机方法是否正确, 均给予“不清楚”评价。所纳入 RCTs 均未提及分配隐藏, 均给予“不清楚”评价。所有 RCTs 均未提及对受试者、研究员、结局测量人员施盲的方法, 给予“不清楚”评价。所纳入 RCTs 均明确说明有效率, 给予“低风险”评价。所纳入 RCTs 未发现有重复发表和已发表偏倚, 给予“低风险”评价。其他偏倚未知, 给予“不清楚”评价。结果见图 2。

2.1.4 总有效率 11 项 RCTs 报告总有效率。合并分析总异质性 $P=1.00$, $I^2=0\%$, 显示各组之间同质性, 采用固定效应模型进行 meta 分析。 $Z=6.76$, $P<0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。

合并 $OR=4.68$, $95\%CI=[2.99, 7.32]$, meta 分析结果显示, SKC 治疗 CGN 能明显提高治疗有效率。结果见图 3。

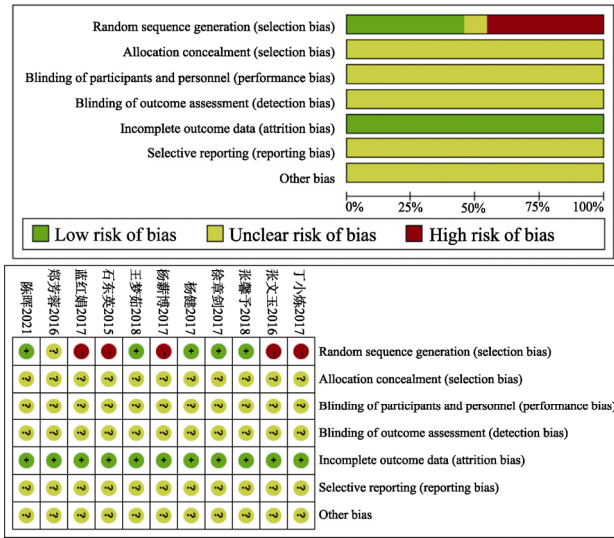


图 2 偏倚风险评价
Fig. 2 Risk of bias assessment

2.1.5 改善尿蛋白及肾功能的疗效评价 有 10 项 RCTs 报告 24 h 尿蛋白, 合并分析总异质性 $I^2=95\%$, $P<0.000\ 01$, 显示各组之间存在异质性, 采用随机效应模型进行 meta 分析。 $Z=6.31$, $P<0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 $SMD=0.41$, $95\%CI=[0.29, 0.54]$, 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 24 h 尿蛋白。有 9 项 RCTs 报告尿素氮, 合并分析总异质性 $I^2=96\%$,

表 1 纳入研究的基本特征
Tab. 1 Characteristics of included in studies

文献来源	干预措施		样本量		评价指标	疗程/周
	治疗组	对照组	治疗组	对照组		
张馨予 2018 ^[16]	对照组+SKC	常规治疗	53	53	①②③④⑤⑥⑦⑧⑨⑩⑪	12
杨薪博 2017 ^[15]	对照组+SKC	常规治疗	39	39	①⑦⑧⑨	4
郑芳蓉 2016 ^[4]	对照组+SKC	常规治疗	36	36	①②③④⑩⑪	4
张文玉 2016 ^[10]	对照组+SKC	常规治疗	48	47	①②③④⑫	12
石东英 2015 ^[9]	对照组+SKC	常规治疗	39	39	①②③④⑤⑥	12
王梦茹 2018 ^[5]	对照组+SKC	常规治疗	43	42	①②③④⑦⑧⑫	12
丁小炼 2017 ^[13]	对照组+SKC	常规治疗	46	45	①②③④⑫	6
蓝红娟 2017 ^[11]	对照组+SKC	常规治疗	41	41	①②③④⑫	4
杨健 2017 ^[14]	对照组+SKC	常规治疗	43	43	①②③④⑤⑥	12
陈晖 2021 ^[17]	对照组+SKC	常规治疗	52	51	①②③④⑫	4
徐章剑 2017 ^[12]	对照组+SKC	常规治疗	31	31	①②④⑫	8

注: ①-有效率; ②-24 h 尿蛋白; ③-尿素氮; ④-血清肌酐; ⑤-甘油三酯; ⑥-总胆固醇; ⑦-CD4; ⑧-CD8; ⑨-CD4/CD8; ⑩-t-PA; ⑪-PAI-1; ⑫-不良反应。

Note: ①-efficiency; ②-24 h urine protein; ③-urea nitrogen; ④-serum creatinine; ⑤-triglyceride; ⑥-total cholesterol; ⑦-CD4; ⑧-CD8; ⑨-CD4/CD8; ⑩-t-PA; ⑪-PAI-1; ⑫-adverse reactions.

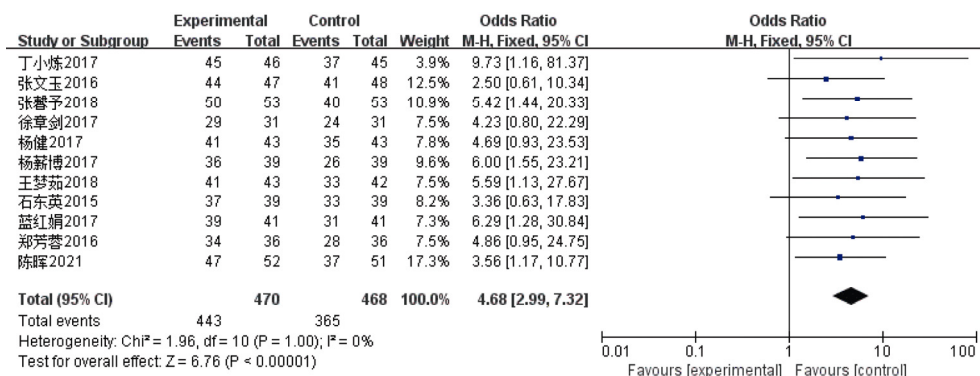


图3 总有效率的 meta 分析

Fig. 3 Meta-analysis of the total efficiency

$P < 0.000\ 01$, 显示各组之间存在异质性, 采用随机效应模型进行 meta 分析。Z=8.49, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 SMD=22.56, 95% CI=[17.35, 27.77], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低尿素氮。有 10 项 RCTs 报告血清肌酐, 合并分析总异质性 $I^2=89\%$, $P < 0.000\ 01$, 显示各组之间存在异质性, 采用随机效应模型进行 meta 分析。Z=5.94, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 SMD=1.57, 95% CI=[1.06, 2.09], 即在常规治疗的基础上联合应用 SKC 可有效降低血清肌酐。结果提示, 常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效改善 CGN 患者的肾功能。结果见表 2。

2.1.6 改善血脂的疗效评价 有 3 项 RCTs 报告 TG, 合并分析总异质性 $P=0.09$, $I^2=48\%$, 显示各组之间异质性较小, 采用固定效应模型进行 meta 分析。Z=9.31, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 MD=0.21, 95% CI=[0.17, 0.25], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 TG。有 3 项 RCTs 报告 TC, 合并分析总异质性 $I^2=80\%$, $P=0.07$, 显示各组之间存在异质性, 采用随机效应模型进行 meta 分析。Z=10.33, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 SMD=1.51, 95% CI=[1.22, 1.80], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 TC。结果显示, SKC 治疗 CGN 可有效改善血脂代谢, 见表 2。

2.1.7 调节免疫的疗效评价 有 3 项 RCTs 报告 CD4, 合并分析总异质性 $P=0.006$, $I^2=81\%$, 显示各组之间存在异质性, 采用随机效应模型进行 meta 分析。Z=5.22, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 SMD=6.45, 95% CI=[4.03, 8.88], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效升高 CD4。有 3 项 RCTs 报告 CD8, 合并分析总异质性

$I^2=0\%$, $P=0.04$, 显示各组之间同质性, 采用固定效应模型进行 meta 分析。Z=8.41, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 MD=2.57, 95% CI=[1.97, 3.17], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 CD8。有 2 项 RCTs 报告 CD4/CD8, 合并分析总异质性 $I^2=0\%$, $P=0.79$, 显示各组之间同质性, 采用固定效应模型进行 meta 分析。Z=7.55, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 MD=0.27, 95% CI=[0.20, 0.34], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效升高 CD4/CD8。结果显示, SKC 治疗 CGN 可有效改善患者免疫力, 见表 2。

2.1.8 调节纤溶酶的疗效评价 有 2 项 RCTs 报告 t-PA, 合并分析总异质性 $I^2=0\%$, $P=0.03$, 显示各组之间同质性, 采用固定效应模型进行 meta 分析。Z=9.69, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 MD=1.68, 95% CI=[1.34, 2.02], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 t-PA。有 2 项 RCTs 报告 PAI-1, 合并分析总异质性 $I^2=28\%$, $P=0.32$, 显示各组之间同质性, 采用固定效应模型进行 meta 分析。Z=7.92, $P < 0.000\ 01$, 表明差异具有统计学意义。合并 MD=5.02, 95% CI=[3.78, 6.26], 即在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 PAI-1。结果显示, SKC 治疗 CGN 可有效改善体内纤溶和凝血, 抑制纤维化, 见表 2。

2.1.9 安全性评价 有 6 项 RCTs 报告安全性, 合并分析总异质性 $I^2=0\%$, $P=0.82$, 显示各组之间具有同质性, 采用固定效应模型进行 meta 分析。Z=3.14, $P=0.002$, 表明差异具有统计学意义。合并 OR=3.07, 95% CI=[1.52, 6.19], meta 分析结果显示, SKC 联合化学药物治疗可显著降低不良反应发生率, 安全性高。

表 2 临床结局的组间比较

Tab. 2 Comparison of clinical outcomes between groups

结局指标		异质性检验		meta 分析			参考文献
		$I^2/\%$	P 值	SMD/MD	95% CI	P 值	
肾功能	24 h 尿蛋白	95	<0.000 01	0.41	[0.29, 0.54]	<0.000 01	[4-5,9-14,16-17]
	血清肌酐	89	<0.000 01	1.57	[1.06, 2.09]	<0.000 01	[4-5,9-14,16-17]
	尿素氮	96	<0.000 01	22.56	[17.35, 27.77]	<0.000 01	[4-5,9-11,13-14,16-17]
血脂	甘油三酯	48	0.09	0.21	[0.17, 0.25]	<0.000 01	[9,14,16]
	总胆固醇	80	0.07	1.51	[1.22, 1.80]	<0.000 01	[9,14,16]
免疫	CD4	81	0.006	6.45	[4.03, 8.88]	<0.000 01	[9,15-16]
	CD8	0	0.04	2.57	[1.97, 3.17]	<0.000 01	[9,15-16]
	CD4/CD8	0	0.79	0.27	[0.20, 0.34]	<0.000 01	[15-16]
纤溶酶	t-PA	0	0.03	1.68	[1.34, 2.02]	<0.000 01	[4,16]
	PAI-1	28	0.32	5.02	[3.78, 6.26]	<0.000 01	[4,16]

2.1.10 发表偏移评价 基于临床有效性结局,共纳入 10 项 RCTs,倒漏斗图呈对称分布,提示发表无偏移。结果见图 4。

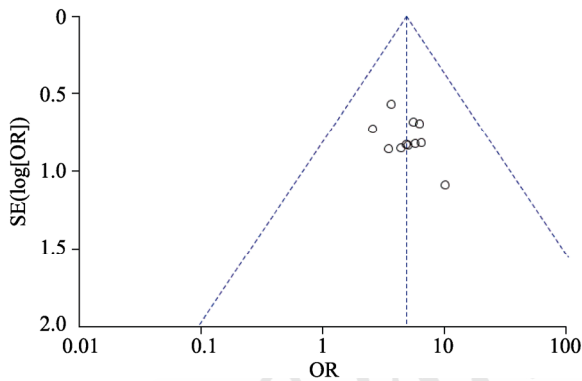


图 4 发表偏移漏斗图

Fig. 4 Funnel of publication bias

2.1.11 敏感性分析 对临床总有效率结局指标总体合并效应量运用逐一排除法分别进行检验,将所有文献依次除外 1 篇,把某 1 篇相关数据删除后重新进行 meta 分析,分析之后的数据结果和之前的 meta 分析结果比较无本质区别,进一步说明了本研究结果的稳定性和可靠性。

2.2 网络药理学结果

2.2.1 SKC 活性成分筛选 通过 TCMSP、BATMAN-TCM 数据库对 SKC 中 5 味中药已报道的活性成分进行检索,并以 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 为限制条件进行筛选,同时从知网、万方和 PubMed 已报道的文献中挖掘中药各成分的候选活性成分,与中药数据库 TCMSP 和 ETCM 互为补充和复核。去掉重复成分后共得到 27 个生物活性成分。结果见表 3。

2.2.2 SKC 的活性成分的收集和筛选 通过上述数据库筛选,由 Cytoscape 3.7.1 软件可获得 SKC

表 3 肾复康胶囊的活性成分

Tab. 3 Chemical components of Shenfakang capsule

分子编号	活性成分名称	OB/%	DL
MOL001870	木犀草素	53.66	0.22
MOL000358	β -谷甾醇	36.91	0.75
MOL000387	联苯双酯	31.10	0.67
MOL000449	豆甾醇	43.83	0.76
MOL000354	异鼠李素	49.60	0.31
MOL000422	山柰酚	41.88	0.24
MOL000098	槲皮素	46.43	0.28
MOL002879	迪奥普	43.59	0.39
MOL005573	根夸宁	37.13	0.24
MOL005911	5-羟基-7,4'-二甲氧基黄酮	51.54	0.27
MOL005916	艾瑞固酮	37.78	0.30
MOL005918	菲酮	38.70	0.33
MOL005921	7-O- β -D-葡萄糖苷	49.57	0.27
MOL013117	4,7-二羟基-5-甲氧基-6-甲基-8-甲酰基-黄烷	37.03	0.28
MOL013129	(2R,3R)-2-(3,5-二羟苯基)-3,5,7-三羟基-4-one	63.17	0.27
MOL001736	(-)-紫杉素	60.51	0.27
MOL004328	柚皮素	59.29	0.21
MOL004567	异胶凝素	34.65	0.70
MOL004575	落新妇苷	36.46	0.74
MOL004576	紫杉素	57.84	0.27
MOL004580	顺式二氢槲皮素	66.44	0.27
MOL000546	薯蓣皂苷元	80.88	0.81
MOL001420	ZINC04073977	38.00	0.76
MOL001421	前外源素	85.97	0.33
MOL001422	异前体素	66.29	0.33
MOL001439	花生四烯酸	45.57	0.20
MOL005921	槲皮素	49.57	0.27

27 个生物活性成分,其活性成分的作用靶点共 97 个(不含重复),其中排名靠前的主要成分有 β -谷甾醇、豆甾醇。对应成分与作用靶点,笔者发现 1 个活性成分可作用多个靶点,多个活性成分也可共同作用 1 个靶点,证明了 SKC 是以多靶点、多途径来发挥整体作用。

2.2.3 CGN 的靶点筛选 通过检索 GeneCards、OMIM 数据库得到 CGN 的疾病治疗靶点,设置

Relevance score ≥ 5 并删去重复靶点, 共得到 635 个 CGN 的疾病治疗靶点。

2.2.4 共同靶点筛选及互作网络构建 将 635 个 CGN 治疗靶点与药物活性成分作用靶点 219 个(含重复)应用 R 语言软件及 Perl 语言程序筛选出共同靶点, 共 97 个输入 Venny 2.1 软件; 应用 STRING 数据平台输入 97 个共同靶点, 在“high confidence: 0.9”的模式下构建 PPI 网络, 结果见图 5。应用 count.R 插件统计出现频次前 30 蛋白靶点, 出现频次较高的有 IL-6、AKT1、MAPK1、VEGFA、FOS 等, 可作为 SKC 治疗 CGN 的潜在靶点。

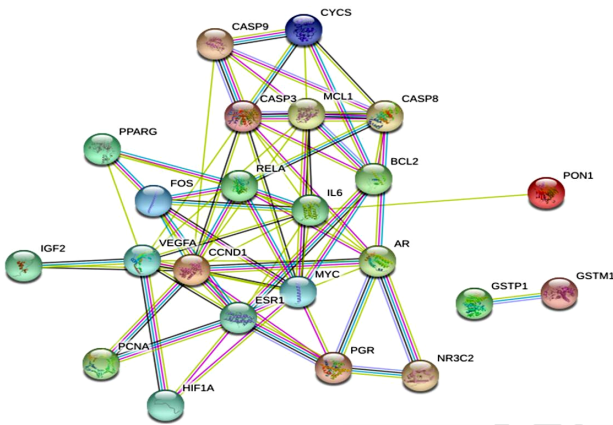
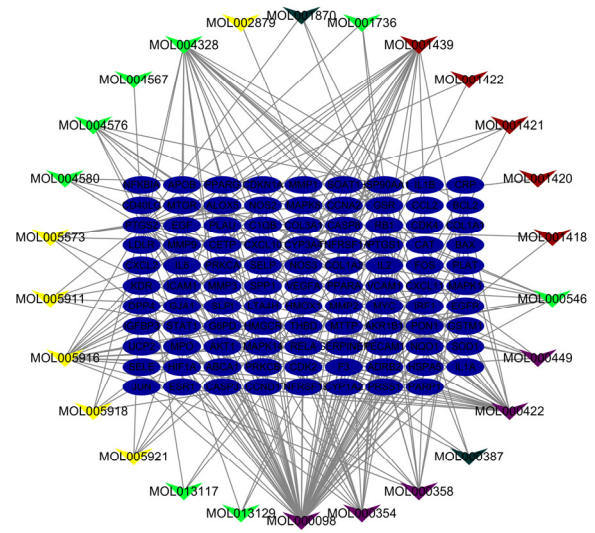


图 5 共同靶点互作网络
Fig. 5 Common target interaction network

2.2.5 生物分子网络构建 采用 Cytoscape 3.7.1 软件在活性成分-CGN-靶点互作网络图中, 共获得 132 个节点(靶点 33 个, 活性成分 97 个, 疾病和药物各 1 个), 见图 6。其中墨绿色代表白茅根, 黄色代表藿香, 浅绿色代表土茯苓, 红色代表益母草, 紫色代表混合成分, 蓝色代表 SKC 活性成分与 CGN 的共同靶点。



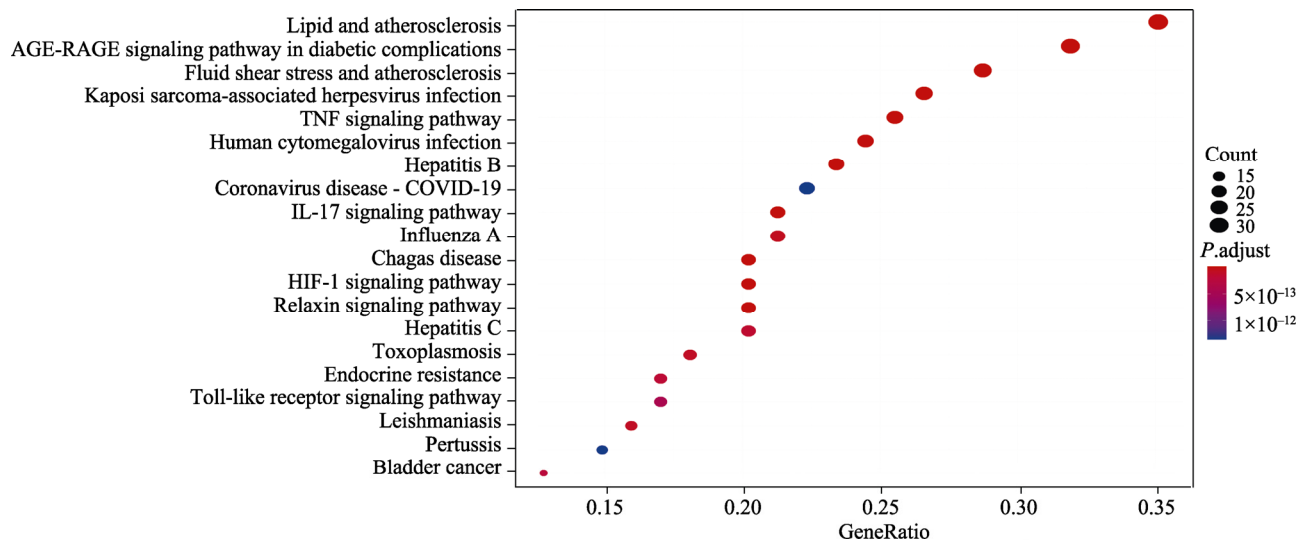


图8 KEGG 富集分析图

Fig. 8 KEGG enrichment analysis diagram

是导致迁延不愈和持续发展重要因素^[19]。SKC 方以土茯苓祛湿泄浊为君药；藿香、槐花为臣药，清热化湿；佐以益母草活血化瘀；白茅根淡渗清利是为使，共奏清热利尿、益肾化浊之功。

本研究所纳入的 11 项 RCTs 均分析了 SKC 治疗 CGN 的总有效率，研究结果显示，在常规化学药物治疗基础上给予 SKC 能明显提高治疗有效率，且进行敏感性分析证实结果稳定、可靠，提示 SKC 治疗 CGN 能明显提升总有效率，且优于对照组。尿蛋白、血清肌酐、尿素氮是常见肾功能及预后评价指标体系，常联合使用，临床研究试验常用这 3 个指标作为疗效评价标准^[20]。本研究有 10 项 RCTs 报告 24 h 尿蛋白、血清肌酐，9 项 RCTs 报告尿素氮，结果显示，治疗组可显著降低 24 h 尿蛋白、血清肌酐、尿素氮，且优于对照组，结果提示在常规化学药物治疗基础上给予 SKC 可显著保护肾功能。高脂血是加速肾小球疾病进展的重要因素之一，TC、TG 是脂代谢常见临床检测指标^[21]，本研究有 3 项 RCTs 报告 TC 和 TG，结果显示，治疗组可显著降低 TC 和 TG，提示 SKC 具有改善血脂代谢功效。研究表明，T 淋巴细胞介导的细胞免疫功能失衡在 CGN 病理过程中发挥的作用^[22]。本研究有 3 项 RCTs 报告 CD4、CD8，有 2 项 RCTs 报告 CD4/CD8，结果显示，治疗组可显著升高 CD4，降低 CD8，升高 CD4/CD8，提示 SKC 治疗 CGN 可有效改善患者免疫机能。血清 PAI-1 及 t-PA 可敏感地反映肾脏局部的血管受损情况。PAI-1 升高能造成肾内肾小球毛细血管

发生硬化，并且损伤血管内皮细胞。t-PA 是一种肾脏保护因子，当机体处于正常的生理状态时，PAI-1 及 t-PA 能进行相互的制约，如果平衡被打破，即提示机体的肾功能受到较为严重的损伤^[16]。本研究有 2 项 RCTs 报告 PAI-1 及 t-PA，研究显示在常规治疗基础上联合应用 SKC 可有效降低 PAI-1、升高 t-PA，提示 SKC 可有效改善体内纤溶和凝血，抑制纤维化。综上，在常规治疗基础上联用 SKC 可提高临床有效率，调节自身免疫、改善血脂、减少尿蛋白与保护肾功能。

本次研究共纳入 11 项 RCTs，但仅有 6 项研究报告不良反应，主要有头昏、咳嗽、口干、水肿，究其原因可能原因有 3 点：①制定研究方案时，并未考虑观察其安全性；②SKC 治疗 CGN 用药安全性较高，不良反应发生率低；③医务人员在指导用药中，及时发现药物不良反应，并积极、妥善处理于轻微状态，未造成严重药物不良反应，故未在文献中进行报道。本研究显示治疗组不良反应发生率明显低于对照组，提示 SKC 治疗 CGN 可减少不良反应发生率，安全性高。

3.2 对临床研究的建议

本研究虽然严格控制干预措施，即在化学药物治疗基础上联合 SKC 进行治疗。然而各研究随机方法、盲法执行情况均不明确，服药剂量、服用疗程缺乏统一性，且未提及随访，因此其终端结局效应仍存在一定差异。因此，未来仍需要纳入更多大样本、多中心、双模拟、双盲的随机对照试验，为其在临床上治疗糖尿病肾病提供更可

靠的循证依据。

3.3 潜在作用机制与临床指标关联性分析

为探索 SKC 治疗 CGN 的潜在作用机制,明确其与临床检测指标的关联性,在 meta 分析基础上,本研究又开展了网络药理学实践。结果筛选出 27 个 SKC 的生物活性成分,从活性成分-靶点互作网络构建结果中得知其关键活性成分是 β -谷固醇、山柰酚、异鼠李素、豆甾醇、槲皮素。有研究证实, β -谷固醇可抑制血清总胆固醇含量,从而抑制其对肾脏的损害^[23]。同时 β -谷固醇可抑制巨噬细胞 M1 极化,增强 M2 极化,降低 TNF- α 、IL-6 水平,抑制 TLR 信号而发挥调节免疫作用^[24]。山柰酚可通过抑制 ASK1/MAPK 信号通路,显著降低氧化应激和脂质过氧化^[25];通过 NF- κ B 信号通路抑制炎症因子(IL-6、TNF- α 、IL-17A)释放,减少 T 淋巴细胞浸润及 CD4⁺T 含量^[26]。异鼠李素可以通过作用 TGF- β 1/Smad3 和 TGF- β 1/p38 MAPK 通路抑制细胞外基质的形成来抑制纤维化^[27]。豆甾醇具有抗氧化自由基,抑制炎症,调节脂质代谢等作用^[28]。柚皮素作为免疫调节剂,减少细胞因子转录、表达,发挥抗炎作用,通过降低细胞因子 TGF- β 1 抑制调节性 T 细胞(Tregs),抑制免疫因素导致的纤维化,减少 ECM 沉积和 PAI-1 水平^[29]。槲皮素可通过下 SRC/PI3K/Akt/NF- κ B 炎症途径来抑制炎症反应^[30],也可降低舒张压、收缩压和平均动脉压^[30],还可降低患者血清高密度脂蛋白胆固醇浓度^[31]。综上,SKC 主要活性成分可能通过调节免疫、抗炎、调脂、抗氧化、抗纤维化从而发挥治疗 CGN 作用。网络药理学推论与 meta 分析结果基本一致。

结合 KEGG 数据库对信号通路注释分析发现,SKC 有效成分可能通过作用 AGE/RAGE 通路、脂质和动脉粥样硬化、TNF 信号通路、IL-17 信号通路等多条信号通路。AGE/RAGE 通路可促进炎症细胞因子释放和细胞外基质生成而介导肾小球肥大和肾小球硬化,亦可与胶原蛋白发生交联,而介导蛋白质的沉积^[32]。血脂异常是 CGN 发生发展的主要因素,可通过系膜细胞-足细胞轴导致尿蛋白增加,诱发肾小管间质纤维化、肾小球硬化^[33],还可以对纤溶系统的活动产生影响,形成高凝状态^[34]。本研究表明,SKC 通过作用脂质和动脉粥样硬化通路调节脂质代谢。IL-17 信号通路能促进组织炎症和自身免疫,Th17 细胞是 CD4⁺辅助性 T 细胞亚群,通过高分泌的 IL-17 促使肾小

球系膜细胞释放 T 细胞、巨噬细胞及中性粒细胞趋化因子,造成肾组织的慢性炎症和免疫反应^[2]。研究证实,减轻 TNF 介导的炎症反应对于延缓终末期肾病的进展有重要作用^[35]。

3.4 不足与局限

本研究纳入 11 项 RCTs 定量分析后显示,SKC 治疗 CGN 的总有效率显著优于对照组,在保护肾功能、降低尿蛋白、调节脂质代谢、调节自身免疫、抑制炎症、抑制肾纤维化等方面均具有一定显著优势。然而,纳入 11 项 RCTs 仅 5 项提及随机分配,所有的研究均未报道分配隐藏的情况,有可能具有实施偏倚与测量偏倚等风险;所有的文献都采用单中心的研究模式,且总体样本量均 ≤ 106 ,缺乏多中心、大队列的随机对照试验研究,说明尽管基于目前的证据,治疗组的总体疗效优于对照组,但是受到纳入研究整体水平和数量的限制,上述结论仍需后续的高质量文献进行进一步验证。此外,网络药理学属于基于虚拟策略的初探技术,其优点主要是给予研究者相关的分子研究方向,即一定的提示作用。然而,网络药理学结果多为预测性结果,建议后期注重对预测关键靶标及通路进行相关药理学研究以确证。Meta 分析方面未来仍需要纳入更多大样本、多中心、双模拟、双盲的随机对照试验,为其在临床上治疗 CGN 提供更可靠的循证依据。

4 结论

本研究整合 meta 分析和网络药理学研究策略,评价 SKC 治疗 CGN 的临床疗效,并分析其潜在干预机制。结果显示,所纳入 11 项 RCTs 中,治疗组在有效率、肾功能、血脂、淋巴细胞亚群、纤溶系统方面优于对照组($P < 0.05$)。通过在线数据库共得到 27 个化学成分和 97 个潜在靶标,主要涉及 AGE/RAGE 通路、脂质和动脉粥样硬化、TNF 通路、IL-17 通路等分子过程。

基于现存证据,西医常规治疗联合 SKC 能增强 CGN 临床疗效,并在调节免疫、降脂、抗纤维化等方面具有一定优势。然而现存整体证据级别较低,尚需大规模、多中心的随机对照试验进行进一步支持。SKC 可能通过多成分、多靶点、多途径、多环节而发挥其治疗 CGN 的整合调节效应。

REFERENCES

- [1] CHEBOTAREVA N V, BOBKOVA I N, LYSSENKO L V. The role of podocytes dysfunction in chronic

- glomerulonephritis progression[J]. Ter Arkh, 2018, 90(6): 92-97.
- [2] WEI L, JIN H, WANG Y P, et al. Study on the efficacy and immune mechanism of Shendi granules on the clinical treatment in chronic glomerulonephritis patients[J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med(中国中医基础医学杂志), 2017, 23(6): 821-823, 871.
- [3] KAWASAKI Y. Mechanism of onset and exacerbation of chronic glomerulonephritis and its treatment[J]. Pediatr Int, 2011, 53(6): 795-806.
- [4] ZHENG F R. Clinical study on Shenfukang capsules combined with sodium ferulate in treatment of chronic glomerulonephritis[J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2016, 31(4): 496-499.
- [5] 王梦茹. 肾复康胶囊联合来氟米特对慢性肾小球肾炎患者功能及 T 细胞亚群、血清 β_2 -微球蛋白水平的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2018, 39(24): 2880-2881.
- [6] GE J B, XU Y J. Internal medicine[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013: 351-354.
- [7] 王小琴, 邵朝弟, 巴元明. 慢性肾小球肾炎诊疗指南[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(9): 129-132.
- [8] MCINNES M D F, MOHER D, THOMBS B D, et al. Preferred reporting items for a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies: The PRISMA-DTA statement[J]. JAMA, 2018, 319(4): 388-396.
- [9] SHI D Y, ZHENG J Q. Clinical study on Shenfukang Capsule combined with benazepril in treatment of chronic glomerulonephritis[J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2015, 30(5): 559-563.
- [10] ZHANG W Y, LI J P, CHANG W X. Clinical observation of Shenfukang Capsules combined with Corbrin Capsules in treatment of chronic glomerulonephritis[J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2016, 31(6): 823-825.
- [11] 蓝红娟, 蓝聪, 曹聪. 肾复康胶囊联合注射阿魏酸钠治疗慢性肾小球肾炎的临床疗效[J]. 深圳中西医结合杂志, 2017, 27(3): 37-38.
- [12] 徐章剑. 肾复康胶囊与厄贝沙坦联合治疗慢性肾炎蛋白尿的临床效果[J]. 中外医学研究, 2017, 15(17): 136-137.
- [13] DING X L, LIU L Y. Clinical study on Shenfukang Capsules combined with hydrochlorothiazide in treatment of chronic glomerulonephritis[J]. Drugs Clin(现代药物与临床), 2017, 32(8): 1524-1527.
- [14] 杨健. 肾复康胶囊与贝那普利联合用药方案治疗慢性肾小球肾炎的临床评价[J]. 航空航天医学杂志, 2017, 28(8): 1001-1003.
- [15] YANG X B, WU J Q, XIANG Y, et al. Effects of Shenfukang capsule combined with sodium ferulate on inflammatory factors and immune function of patients with chronic glomerulonephritis[J]. Prog Mod Biomed(现代生物医学进展), 2017, 17(24): 4735-4738.
- [16] ZHANG X Y, HU H X, WANG K. Effects of Shenfukang capsule on chronic glomerulonephritis and serum t-PA and PAI-1 expression[J]. J Chengdu Univ Tradit Chin Med(成都中医药大学学报), 2018, 41(3): 53-57.
- [17] 陈晖, 曹昉, 袁飞远. 肾复康胶囊结合缬沙坦胶囊对慢性肾小球肾炎疗效、肾功能、血清炎症因子影响研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(9): 177-180.
- [18] 海江, 刘芳. 参芪地黄汤治疗慢性肾小球肾炎气阴两虚证临床疗效及对免疫功能影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(7): 131-134.
- [19] LIU Y, LI W. Research on traditional Chinese medicine pathogenesis and microscopic syndrome differentiation of chronic glomerulonephritis[J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol(世界科学技术-中医药现代化), 2019, 21(6): 1062-1067.
- [20] SONG J Y, LYU Y H, WANG C J, et al. Clinical observation of Yishen Tongluo Decoction in treating chronic glomerulonephritis with spleen and kidney qi deficiency and blood stasis syndrome[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2021, 27(14): 93-98.
- [21] LIU Y, WEI W, YU C Y, et al. Epidemiology and risk factors for progression in Chinese patients with IgA nephropathy[J]. Med Clin (Barc), 2021, 157(6): 267-273.
- [22] CHEBOTAREVA N V, VINOGRADOV A A, GINDIS A A, et al. The balance of proinflammatory cytokines and Treg cells in chronic glomerulonephritis[J]. Ter Arkh, 2020, 92(6): 46-52.
- [23] LIU Y W, LEI L, WANG X B, et al. Plasma cholesterol-raising potency of dietary free cholesterol versus cholesteryl ester and effect of β -sitosterol[J]. Food Chem, 2015(169): 277-282.
- [24] LIU R, HAO D L, XU W Y, et al. β -Sitosterol modulates macrophage polarization and attenuates rheumatoid inflammation in mice[J]. Pharm Biol, 2019, 57(1): 161-168.
- [25] LIU C, LIU H, LU C, et al. Kaempferol attenuates imiquimod-induced psoriatic skin inflammation in a mouse model[J]. Clin Exp Immunol, 2019, 198(3): 403-415.
- [26] IMRAN M, RAUF A, SHAH Z A, et al. Chemo-preventive and therapeutic effect of the dietary flavonoid kaempferol: A comprehensive review[J]. Phytother Res, 2019, 33(2): 263-275.
- [27] LIU N, FENG J, LU X Y, et al. Isorhamnetin inhibits liver fibrosis by reducing autophagy and inhibiting extracellular matrix formation via the TGF- β 1/Smad3 and TGF- β 1/p38 MAPK pathways[J]. Mediators Inflamm, 2019(2019): 6175091.
- [28] WANG S, SUN Y, LI C M, et al. Research progress of stigmasterol[J]. China Pharm(中国药业), 2019, 28(23): 96-98.
- [29] ZENG W F, JIN L T, ZHANG F Y, et al. Naringenin as a potential immunomodulator in therapeutics[J]. Pharmacol Res, 2018(135): 122-126.
- [30] LIN W, WANG W, WANG D, et al. Quercetin protects against atherosclerosis by inhibiting dendritic cell activation[J]. Mol Nutr Food Res, 2017, 61(9): 2017, 61(9). Doi: 10.1002/mnfr.201700031.
- [31] MARUNAKA Y, MARUNAKA R, SUN H X, et al. Actions of quercetin, a polyphenol, on blood pressure[J]. Molecules, 2017, 22(2): 209.
- [32] RAMANI K, TAN R J, ZHOU D, et al. IL-17 receptor signaling negatively regulates the development of tubulointerstitial fibrosis in the kidney[J]. Mediators Inflamm, 2018(2018): 5103672.
- [33] GAO Y, YANG L, WANG J R, et al. Hyperlipidemia may aggravate the renal tubulointerstitial lesions in IgA nephropathy by mesangial cells and podocyte axis[J]. J Pract Med(实用医学杂志), 2018, 34(14): 2385-2388.
- [34] LEE M S, ZHAO H X, LIU X M, et al. Protective effect of hydroxysafflor yellow A on nephropathy by attenuating oxidative stress and inhibiting apoptosis in induced type 2 diabetes in rat[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020(2020): 7805393.
- [35] SUN T L, DONG W P, JIANG G H, et al. *Cordyceps militaris* improves chronic kidney disease by affecting TLR4/NF- κ B redox signaling pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019(2019): 7850863.

收稿日期: 2021-05-27
(本文责编: 李艳芳)