

基于网络药理学探讨紫草素对肝损伤的作用

姬雨辰 梁远锋 陈雪 耿昊东 马磊 梁丹丹*
新疆第二医学院

DOI:10.12238/bmtr.v6i4.8490

[摘要] 目的: 基于网络药理学方法探究紫草素改善肝损伤的分子作用机制。方法: 运用Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology(TCMSP)、Pharm- Mapper检索紫草素作用的相关靶点, 并将检索得到的靶点在Uniprot蛋白质数据库进行标准化处理; 通过OMIM、GeneCards数据库获取肝损伤的有效靶点; 通过Venny平台, 得到的交集靶点作为紫草素治疗肝损伤的靶点, 运用Cytoscape3.7.0软件和String数据库构建紫草素-肝损伤交集靶点网络以及蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络图; 采用DAVID数据库对关键靶点进行基因本体GO富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析, 阐述紫草素改善肝损伤的作用通路及分子机制。结果: 通过TCMSP和Pharm- Mapper数据库, 获得289个紫草素靶点, 从OMIM及GeneCards数据库中筛选出9707个肝损伤靶点, 通过Venny平台找到252个紫草素与肝损伤的共表达靶点, 在PPI网络图中得到关键靶点为AKT1, EGFR, ESR1, CASP3等10个核心靶点, 通过GO富集和KEGG通路分析, 主要涉及内分泌代谢通路、癌症通路、PI3K-Akt信号通路、Ras信号通及MAPK信号通路等。结论: 紫草素可通过靶向AKT1, EGFR, ESR1, CASP3等多靶点和多途径的方式发挥改善肝损伤的作用。

[关键词] 紫草素; 肝损伤; 网络药理学

中图分类号: R96 **文献标识码:** A

Exploring the Mechanism of Shikonin for liver injury based Network pharmacology

Yuchen Ji Yuanfeng Liang Xue Chen Haodong Geng Lei Ma Dandan Liang*

Xinjiang Second Medical College Karamay

[Abstract] Objective: Based on Network pharmacology to explore the Mechanism of Shikonin for treating liver injury. Methods: The relevant targets of shikonin were searched by using Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology (TCMSP) and Pharm- Mapper, and the retrieved targets were standardized in the UniProt protein database. The effective targets of liver injury were obtained from the OMIM and GeneCards databases. The intersection targets obtained through the Venny platform were used as the targets for shikonin treatment of liver injury. The shikonin-liver injury intersection target network and protein-protein interaction (PPI) network diagram were constructed using Cytoscape 3.7.0 software and the String database. The DAVID database was used to perform gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis on the key targets, elucidating the action pathways and molecular mechanisms of shikonin in improving liver injury. Results: Through the TCMSP and Pharm- Mapper databases, 289 shikonin targets were obtained, and 9707 liver injury targets were screened from the OMIM and GeneCards databases. 252 co-expression targets of shikonin and liver injury were found through the Venny platform. In the PPI network diagram, 10 core targets such as AKT1, EGFR, ESR1, and CASP3 were identified as key targets. Through GO enrichment and KEGG pathway analysis, the main pathways involved were endocrine and metabolic pathways, cancer pathways, PI3K-Akt signaling pathway, Ras signaling pathway, and MAPK signaling pathway. Conclusion: Shikonin can improve liver injury through targeting multiple targets and pathways such as AKT1, EGFR, ESR1, and CASP3.

[Key words] Shikonin; liver injury; Network pharmacology

前言

肝脏作为人体重要的生产和加工场所, 对人体的健康至关

重要, 其肝功能异常导致多种疾病的发生。每年死于肝脏疾病的人数占所有死亡的4%, 因此肝脏疾病是世界范围内的一大健康

问题^[1]。肝炎、脂肪肝、肝纤维化等肝脏疾病在全球范围内都呈逐年上升的趋势,给全球的医疗资源和社会经济造成了巨大的负担。因此,寻找开发综合效益高的保肝药物一直是药物研究的热点之一。

紫草素(Shikonin)被称为左旋紫草醌,是新疆维吾尔族传统药材紫草中含有的一种脂溶性很强的萘醌类化合物,具有多种药理活性作用其中,研究表明紫草素可以通过多种途径、多靶点对肝损伤发挥保护作用。

因此,本研究旨在通过运用网络药理学的方法,系统分析紫草素与肝损伤之间的相互作用关系,挖掘其潜在的治疗靶点,并深入探讨其治疗机制。通过数据库筛选、交集分析、PPI网络构建以及GO富集和KEGG通路分析等手段,最终深入阐明紫草素治疗肝损伤的分子机制,为其在临床上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 紫草素靶点的获取。采用中药药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://www.tcmospw.com>)数据库,药物与靶标分析网站(Pharm-Mapper, <http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper>)检索紫草素的靶点,并将检索到的靶点统一在Uniprot蛋白质数据库进行标准化处理。

1.2 肝损伤疾病靶点的筛选。以“liver injury”关键词,通过OMIM(<https://omim.org>)、GeneCards(<http://www.genecards.org>)数据库获取肝损伤的有效靶点。合并两个数据库,删除重复值,即为肝损伤的靶点。

1.3 药物-靶点-疾病网络的构建。将上述得到的紫草素靶点与肝损伤靶点依次输入到Venny平台,得到的交集靶点即为紫草素治疗肝损伤的靶点。并将紫草素靶点与肝损伤靶点导入Cytoscape 3.7.0软件中获取紫草素-肝损伤交集靶点网络图。

1.4 PPI网络的构建。为了系统的探讨紫草素与肝损伤靶点间的网络协同作用,故采用String数据库对交集靶点进行蛋白-蛋白相互作用(PPI)分析,设置物种为“Homo sapiens”种,最小交互打分为0.9,构建PPI网络。再将结果以TSV格式导出,借用Cytoscape 3.7.0的分析软件对网络进行拓扑参数进行分析。选取Degree值排名靠前的靶点作为核心靶点。

1.5 GO富集分析和KEGG通路分析。采用DAVID平台,设置物种为“Homo sapiens”种对交集靶点进行GO富集分析和KEGG通路分析,其中GO富集分析包括生物过程(BP)、分子功能(MF)、细胞组成(CC)三个分支。根据P value值,选取结果较好的过程和通路采用R语言进行作图分析。

2 结果

2.1 紫草素靶点的获取。通过TCMSP和Pharm-Mapper数据库,剔除重复项后共获得289个紫草素靶点。

2.2 紫草素改善肝损伤靶点的预测。通过OMIM及GeneCards数据库分别获得肝损伤靶点40和9696个,剔除重复项后得到9707个肝损伤靶点。将其与紫草素对应的靶点取交集,得到252个紫草素治疗肝损伤的靶点。

2.3 紫草素-肝损伤交集靶点网络的构建。将紫草素、紫草

素靶点、肝损伤靶点依次导入Cytoscape中,构建紫草素-肝损伤交集靶点图(见图1),通过网络得到紫草素治疗肝损伤共有252个靶点发挥作用。

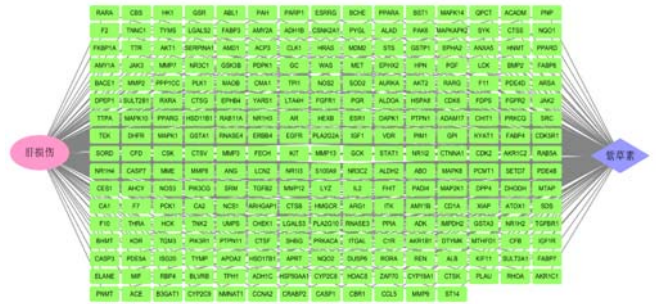


图1 紫草素-肝损伤交集靶点网络图

2.4 PPI网络的构建。使用String数据库,对交集靶点进行蛋白间相互作用分析,构建PPI网络图(图2)。网络中包含251个节点,2837条边,平均节点22.6。借助Cytoscape软件分析发现ALB、AKT1、HSP90AA1、EGFR、ESR1等10个靶点的Degree值排名靠前,为紫草素在治疗肝损伤的核心靶点,具体信息见表1。

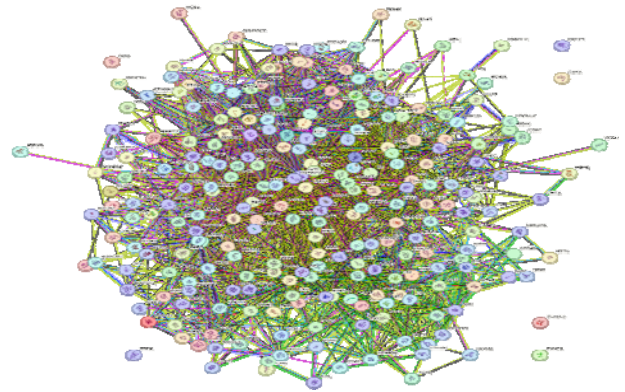


图2 紫草素与肝损伤交集靶点的PPI网络图

表1 紫草素治疗肝损伤的核心靶点信息表

序号	靶点	Degree	蛋白名称	中文名
1	ALB	125	Albumin	白蛋白
2	AKT1	118	AKT Serine/Threonine Kinase 1	AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶
3	HSP90AA1	101	Heat Shock Protein 90 Alpha Family Class A Member 1	热休克蛋白90α 家族A 类成员1
4	EGFR	97	Epidermal Growth Factor Receptor	表皮生长因子受体
5	ESR1	89	Estrogen Receptor 1	雌激素受体1
6	CASP3	86	Caspase 3	半胱氨酸蛋白酶3
7	SRC	85	SRC Proto-Oncogene, Non-Receptor Tyrosine Kinase	非受体酪氨酸激酶
8	MMP9	84	Matrix Metalloproteinase 9	基质金属蛋白酶
9	PPARG	82	Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma	过氧化物受体γ
10	IGF1	72	Insulin Like Growth Factor 1	胰岛素样生长因子

2.5 GO富集分析与KEGG通路分析。将获得的交集靶点通过DAVID数据库进行GO富集分析与KEGG通路分析。GO富集分析结果

显示, 主要涉及517条生物过程, 包括信号转导、蛋白质磷酸化、RNA聚合酶II启动子的转录正调控等; 62个细胞组成包括胞质、细胞质、核等; 141条分子功能, 包括蛋白结合、ATP结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性等, 根据P值分别筛选前10条作图, 如图3所示。KEGG通路分析得到代谢通路、癌症通路、PI3K-Akt信号通路、Ras信号通道及MAPK信号通路等163条信号通路, 根据P值筛选前20条及通路作图, 如图4所示。

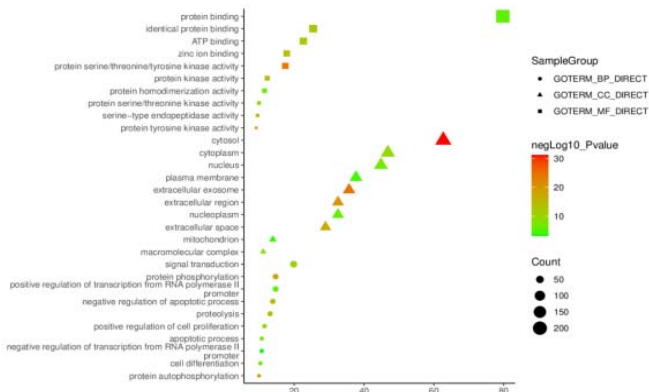


图3 紫草素与肝损伤的交集靶点GO富集分析图

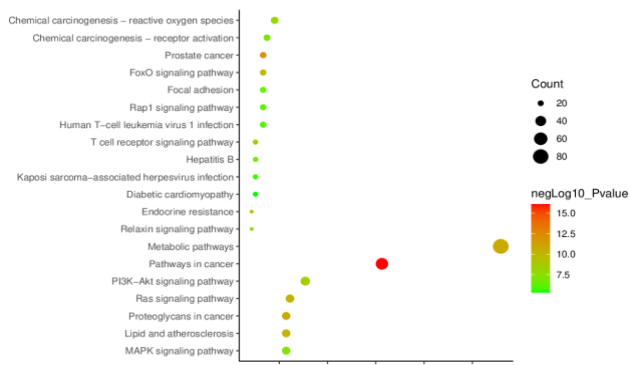


图4 KEGG通路富集分析气泡图

3 讨论

肝损伤可由多种致病因素引起肝细胞受到破坏, 进而影响肝脏的正常功能, 引起机体的不适症状及肝功能指标异常。长时间的肝损伤通常会导致严重的病变以及不可逆的损伤。紫草素具有悠久的药用历史, 已被证明具有改善肝损伤的作用, 但作用靶点及相关作用机制研究较少。本研究采用网络药理学方法, 借助有关数据库和软件对紫草素对肝损伤的作用靶点和分子作用机制进行探讨。

在紫草素对肝损伤的252个靶点中, AKT1, EGFR、CASP3等10个靶点被确定为关键靶点, 其中较多靶点与细胞增殖或凋亡、炎症因子、氧化应激脂质代谢有关, 它们在紫草素治疗肝损伤过程中起着关键作用。AKT是PI3K下游的关键蛋白, 通过抑制AKT通路活性诱导肝癌细胞凋亡。EGFR是原癌基因c-erbB-1 (HER-1) 的表达产物, 参与肝组织再生过程。CASP3是Caspase家族蛋白, 与细胞凋亡有关, 是促凋亡因子。研究表明不可逆的抑制CASP3活

性, 进而可降低PARP的裂解和细胞凋亡, 从而减轻小鼠酒精性肝损伤失活^[2], 同时CASP3的缺失、突变会导致细胞凋亡中断, 导致肿瘤的发生、恶化, 与肝癌的发生存在密切关系。

进一步的GO和KEGG富集分析显示紫草素改善肝损伤主要参与了代谢、癌症、PI3K-Akt、Ras、MAPK等信号通路。氨基酸代谢在肝损伤过程中具有关键作用, 其代谢紊乱会影响蛋白质的合成^[3]。PI3K-Akt信号通路是调节细胞周期、增殖、凋亡和代谢的重要信号传导机制。研究表明, 在改善肝损伤过程中, PI3K/AKT/mTOR反应被抑制^[4]。同时PI3K/AKT/mTOR在癌症通路中也具有重要作用, 通过靶向PI3K/AKT/mTOR可调节肝癌的进展^[5]。由此可见, 紫草素作用的关键靶点分布于不同的信号通路, 可通过多通路协调改善肝损伤。

综上所述, 本研究采用网络药理学方法, 将各网络及数据库进行综合讨论分析, 对紫草素通过“多靶点、多途径”治疗肝损伤的分子作用机制进行了充分的探讨, 方法较为完整, 且筛选结果大多有相关文献支持, 后续还需对预测结果进行细胞或动物实验, 为相关基础和临床研究提供新的思路与参考。

【基金项目】

新疆维吾尔自治区大学生创新创业训练计划项目 (No.S202213560017)。

【参考文献】

- [1]Devarbhavi, Harshad et al. “Global burden of liver disease:2023 update.” *Journal of hepatology* vol.79,2(2023): 516-537.
- [2]You,Jingping et al. “Lentinan induces apoptosis of mouse hepatocellular carcinoma cells through the EGR1/PTE/AKT signaling axis.” *Oncology reports* vol.50,1(2023):142.
- [3]Ma,Xiao-Yao et al. “Ursolic acid reduces hepatocellular apoptosis and alleviates alcohol-induced liver injury via irreversible inhibition of CASP3 in vivo.” *Acta pharmacologica Sinica* vol.42,7(2021):1101-1110.
- [4]Pallerla,Pavankumar et al. “Evaluation of amino acids and other related metabolites levels in end-stage renal disease (ESRD) patients on hemodialysis by LC/MS/MS and GC/MS.” *Analytical and bioanalytical chemistry* vol.415,26(2023):6491-6509.
- [5]Meng,Yu-Xi et al. “Interleukin-22 alleviates alcohol-associated hepatic fibrosis, inhibits autophagy, and suppresses the PI3K/AKT/mTOR pathway in mice.” *Alcohol, clinical & experimental research* vol.47,3(2023):448-458.

作者简介:

姬雨辰(2003--),女,汉族,河南省南阳市社旗县人,本科在读,从事临床医学方向研究。

通讯作者:

梁丹丹(1993--),女,汉族,河南省周口市鹿邑县人,硕士研究生,广西医科大学,讲师,从事分子肿瘤药理学方面研究。