

## 基于网络药理学探讨人参调控铁死亡抗阿尔茨海默病的潜在作用机制

李楠, 陈蕾, 张琨\*

吉林大学第二医院 研究中心, 吉林 长春 130000

**摘要:** 目的 采用网络药理学方法探讨人参抗阿尔茨海默病的可能靶标及作用机制。方法 利用 TCMSP 数据库获取人参活性成分及其所对应的靶标。通过 GeneCards 数据库获取阿尔茨海默病的治疗靶标。利用 Venn 在线工具获得人参活性成分和阿尔茨海默病的共同作用靶点。运用 Cytoscape 软件构建人参、活性成分、靶标间相互作用网络关系图, 并使用 CytoHubba 插件获得核心靶点以及核心子网络。应用 DAVID 数据库进行基因本体(GO)富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。检索 FerrDb 数据库, 获得调控铁死亡的基因并进行分析, 最终综合探析人参活性成分、阿尔茨海默病、铁死亡 3 者关系并作出预测。结果 从人参中筛选出具有作用靶点的 16 个有效活性成分, 预测得到以 HMOX1、NOS2、PTGS2、IFNG、MAPK8、JUN 和 RELA 7 个人参调控铁死亡抗阿尔茨海默病的可能作用靶标, 介导 HIF-1、TNF、T 细胞受体、Toll 样受体、神经营养因子、cAMP、MAPK、NOD 样受体等信号通路调控铁死亡途径, 从而对抗阿尔茨海默病的发生及进展。结论 利用网络药理学探讨了人参抗阿尔茨海默病的多成分、多靶点、多通路的作用特点, 并挖掘出人参活性成分调控铁死亡抗阿尔茨海默病的可能靶点及信号转导机制。

**关键词:** 人参; 阿尔茨海默病; 铁死亡; 山柰酚; 网络药理学

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)02-0244-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.02.004

## Potential mechanism of *Ginseng Radix et Rhizoma* for treatment of Alzheimer's disease by regulating ferroptosis based on network pharmacology

LI Nan, CHEN Lei, ZHANG Kun

Research Center of the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130000, China

**Abstract: Objective** The possible target and mechanism of *Ginseng Radix et Rhizoma* against Alzheimer's disease were investigated by network pharmacology method. **Methods** The active ingredients of *Ginseng Radix et Rhizoma* and their corresponding targets were obtained by using TCMSP database. Therapeutic targets for Alzheimer's disease were obtained from GeneCards database. The co-action targets of *Ginseng Radix et Rhizoma* active ingredients and Alzheimer's disease were obtained using Venn online tool. Cytoscape software was used to construct the network diagram of interaction between *Ginseng Radix et Rhizoma*, active ingredient and target, and CytoHubba plug-in was used to obtain the core target and core subnetwork. DAVID database was used for gene ontology (GO) enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. FerrDb database was searched to obtain and analyze the genes regulating ferroptosis. Finally, the data of *Ginseng Radix et Rhizoma* active ingredients, Alzheimer's disease and ferroptosis were comprehensively analyzed and predicted. **Results** Sixteen active components were screened from *Ginseng Radix et Rhizoma*, and seven possible targets of *Ginseng Radix et Rhizoma* regulating ferroptosis and anti-Alzheimer's disease were predicted, including HMOX1, NOS2, PTGS2, IFNG, MAPK8, JUN, and RELA. Ferroptosis pathway is regulated by mediating HIF-1, TNF, T cell receptor, Toll-like receptor, neurotrophic factor, cAMP, MAPK, NOD-like receptor, and other signaling pathways, thus combating the occurrence and progression of Alzheimer's disease. **Conclusion** The multi-component, multi-target and multi-pathway action characteristics of *Ginseng Radix et Rhizoma* against Alzheimer's disease were explored by using network pharmacology, and the possible targets and signal transduction mechanism of *Ginseng Radix et Rhizoma* active ingredients regulating ferroptosis against Alzheimer's disease were explored.

**Key words:** *Ginseng Radix et Rhizoma*; Alzheimer's disease; ferroptosis; kaempferol; network pharmacology

收稿日期: 2021-09-29

基金项目: 吉林省自然科学基金资助项目(20200201515JC); 吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20221091KJ)

作者简介: 李楠(1996—), 硕士在读, 临床检验诊断学专业。E-mail: 1530300858@qq.com

\*通信作者: 张琨(1968—), 博士, 主任医师, 研究方向为雌激素代谢相关疾病。E-mail: zk303@jlu.edu.cn

阿尔茨海默病是老年人痴呆症的最常见原因之一,占老年期痴呆的 50%~70%。患者的记忆力、语言和解决问题的能力受到严重损害。细胞死亡是阿尔茨海默病发展过程中的常见现象。然而,触发神经元细胞死亡的机制尚不清楚。铁死亡是一种铁依赖性脂质过氧化驱动的细胞死亡,新出现的证据表明铁死亡与阿尔茨海默病的病理过程有关<sup>[1]</sup>。迄今为止,尚未阐明铁死亡在阿尔茨海默病发病中的具体机制,且临床没有有效的药物可以阻止阿尔茨海默病的进展。因此,探讨阿尔茨海默病的发病机制和寻找有效的预防和治疗方法成为迫切需要。

研究证实,人参及其主要活性成分在抗阿尔茨海默病发生和发展中发挥重要作用。人参皂苷可以抑制  $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )聚集和 Tau 蛋白过度磷酸化,防止神经炎症和细胞凋亡,增加神经营养因子的分泌,改善线粒体功能障碍防治阿尔茨海默病<sup>[2]</sup>。人参皂苷 Re 通过抑制线粒体介导的细胞凋亡途径和细胞凋亡信号调节激酶 1/c-Jun 氨基末端激酶(ASK1/JNK)信号通路对 A $\beta$  诱导的神经元毒性具有保护作用<sup>[3]</sup>。人参总皂苷能以剂量相关性方式改善阿尔茨海默病模型小鼠的认知障碍和代谢变化<sup>[4]</sup>。据报道,人参活性成分也可以调控铁代谢并抑制铁死亡过程而延缓疾病进展<sup>[5-7]</sup>。人参药效多样且复杂,虽然其药效作用在不断研究和探索,但至今人参调控铁死亡抗阿尔茨海默病的机制还尚未明确。

本研究利用网络药理学系统地研究“人参成分-靶标-疾病-通路”间的网络关系,从而阐明人参调控铁死亡治疗阿尔茨海默病可能的作用机制,以期为临床应用和药物开发提供参考。

## 1 数据库及软件

TCMSP 数据库 (<https://tcmsp.com/tcmsp.php>); Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>); STRING 11.0 在线平台 (<https://stringdb.org>); GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>); Venn 图在线工具 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>); 生物学信息注释数据库(DAVID, <https://david.ncifcrf.gov/summary.jsp>); FerrDb 数据库 (<http://www.zhounan.org/ferrdb/>); Cytoscape 软件。

## 2 方法

### 2.1 人参活性化合物及靶标的筛选

在 TCMSP 数据库<sup>[8]</sup>搜索栏输入“ginseng”进行检索,获取人参的所有活性成分的相关信息。根

据药动学过程,对人参的活性成分按口服生物利用度(oral bioavailability, OB)和类药性(drug-likeness, DL)进行筛选。参考经典研究方法,设定  $OB \geq 30\%$  且  $DL \geq 0.18$  筛选符合条件的活性成分,再人为筛去无对应靶点的成分,最终提取相关活性成分的作用靶标集。

### 2.2 疾病相关靶点得筛选

在 GeneCards 数据库中输入关键词“Alzheimer's disease”进行检索,整理得到阿尔茨海默病的靶点集。

### 2.3 “药物-活性成分-靶点”网络构建

由于上述数据库检索到的靶点存在命名不规范的问题,利用 UniProt 数据库中 UniProtKB 搜索功能,通过输入蛋白名称并限定物种为“human”,将靶点蛋白校正为官方基因名称并匹配人参活性成分预测靶标对应的人源物种的基因。然后将人参活性成分靶点集与阿尔茨海默病靶点集分别输入 Venn 图在线工具中相映射,得到交集靶点即为人参活性成分治疗阿尔茨海默病的潜在作用靶点。在 Excel 表格中建立人参各活性成分与预测靶点的对应关系,导入 Cytoscape 3.8.2 软件建立“药物-活性成分-靶点”网络图。

### 2.4 蛋白质相互作用(PPI)网络的构建和关键核心靶点的筛选

将得到的交集靶点蛋白上传到 STRING 数据库,选择物种为“Homo sapiens”,获得蛋白间相互作用信息,导出 TSV 格式数据文件,再将其导入 Cytoscape 3.8.2 软件进行可视化处理。CytoHubba 为 Cytoscape 的内置插件,根据网络特征对网络中的节点进行排序,提供了 11 种基于最短路径的拓扑分析方法,包括度、边缘穿透分量、最大邻域分量、最大邻域分量密度、最大集团中心度和 6 个中心度(瓶颈、边缘中心度、紧密度、径向度、中间度和应力)。CytoHubba 可以准确地筛选出网络中的重要节点,其中最大集团中心度(maximal clique centrality, MCC)算法已被证实是预测重要靶点较为精确的方法<sup>[9]</sup>。通过 MCC 拓扑算法确定关键核心靶点即人参治疗阿尔茨海默病的关键靶点,并构建人参活性成分治疗阿尔茨海默病的关键子网络,这些子网络在 PPI 网络中发挥着极为重要的作用。

### 2.5 基因本体(GO)分类富集分析与通路分析

通过 DAVID 数据库在线分析功能,将获得的靶标基因导入 Omicsbean 软件, ID type 设置为 Gene

Symbol, 物种设置为“Homo sapiens”, 对靶点蛋白进行 GO 富集和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析, 将输出文件导入至 Excel 工作表中, 筛选出  $P < 0.05$  的功能和通路, 绘制柱状图。

## 2.6 铁死亡调控基因获取及其与人参、阿尔茨海默病 3 者靶点综合分析

FerrDb 数据库是关于铁死亡调节剂和标记物以及铁死亡与疾病关联的数据库<sup>[10]</sup>。利用此数据库获取调控铁死亡过程的调节剂和标志物。进入 FerrDb 数据库主页, 分别检索铁死亡过程的标记基因、驱动基因、抑制基因, 将其导出至 Excel 表格进行汇总整理。再将整理好的铁死亡调控基因和上述人参参与调控阿尔茨海默病的靶基因分别输入到 Venn 在线分析工具提取其公共基因, 即人参与调控铁代谢治疗阿尔茨海默病的靶点。使用 DAVID 数据库对得到的 3 者间的公共基因进行 KEGG 信号通路分析, 导出结果至 Excel 表格绘制柱状图, 并用 STRING 数据库构建 PPI 网络。

## 3 结果

### 3.1 人参活性成分的筛选

利用 TCMSP 数据库, 共得到包括人参皂苷、人参多糖、木质素类化合物等在内的 190 个化学成分, 根据  $OB \geq 30\%$  和  $DL \geq 0.18$ , 同时筛去无对应靶点的成分, 最终获得 16 种人参活性成分。为方便后续研究, 将它们分别编号为 RS1~RS16, 具体信息见表 1。

表 1 人参活性成分信息

Table 1 Information of active components in *Ginseng Radix et Rhizoma*

编号	MOL 编号	活性成分名称	OB/%	DL
RS1	MOL005308	aposiopolamine	66.65	0.22
RS2	MOL005321	frutinone A	65.90	0.34
RS3	MOL003648	inermin	65.83	0.54
RS4	MOL005356	girinimbin	61.22	0.31
RS5	MOL000787	fumarine	59.26	0.83
RS6	MOL005384	suchilactone	57.52	0.56
RS7	MOL005320	arachidonate	45.57	0.20
RS8	MOL000449	stigmaterol	43.83	0.76
RS9	MOL002879	diop	43.59	0.39
RS10	MOL000422	kaempferol	41.88	0.24
RS11	MOL005318	dianthramine	40.45	0.20
RS12	MOL005317	deoxyharringtonine	39.27	0.81
RS13	MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
RS14	MOL005344	ginsenoside Rh <sub>2</sub>	36.32	0.56
RS15	MOL005376	panaxadiol	33.09	0.79
RS16	MOL005348	ginsenoside Rh <sub>4</sub>	31.11	0.78

### 3.2 阿尔茨海默病与人参交集靶标的筛选

通过 TCMSP 数据库, 筛选出人参有效活性成分对应的 194 个潜在作用靶点, 通过 Uniport 数据库将靶点转换为对应的基因, 去除无效和重复靶点后, 得到 94 个人参潜在活性成分的作用靶点。

通过检索 GeneCards 数据库, 获得阿尔茨海默病相关分子靶标 8 699 个。利用 Venn 图在线工具分析阿尔茨海默病靶标与人参有效活性成分对应靶标的共有部分, 获得人参对抗阿尔茨海默病的 84 个预测作用靶标, 见图 1。

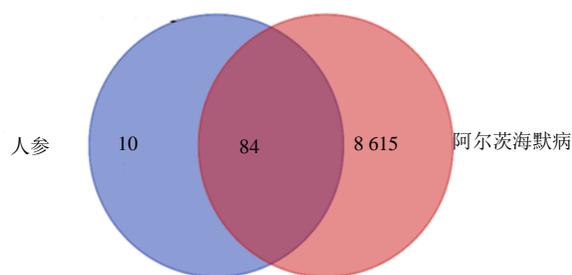


图 1 人参与阿尔茨海默病的共同靶标

Fig. 1 Common targets of *Ginseng Radix et Rhizoma* and Alzheimer's disease

### 3.3 人参“药物-成分-靶标”网络图构建

运用 Cytoscape 3.8.2 软件构建人参-有效活性成分-靶点网络, 见图 2。其中, 最中间为人参, 内圈节点代表人参有效活性成分, 外圈节点代表靶标, 边线代表有效活性成分与靶标间的相互联系。在该网络中, 山柰酚所对应的靶标最多, 共有 53 个靶标与其直接相连, 在此网络中处于关键地位, 提示山柰酚也许可以成为人参发挥抗阿尔茨海默病的关键成分。从图 2 中可看出, 人参的多数活性成分可以作用于多个靶点, 且多个活性成分存在共同作用靶点, 体现了人参多成分、多靶点的作用特点。

### 3.4 人参活性成分抗阿尔茨海默病的潜在作用靶标 PPI 网络

利用 STRING 数据库平台, 选择人源物种, 获得靶标相互作用关系, 设置置信度为 0.9, 其余参数设定为系统默认, 并隐藏断开节点的靶点, 绘制相互作用网络图, 见图 3。该网络图共包括 84 个圆形节点, 代表所有预测靶标。边线 227 条, 代表靶标之间的相互联系。将蛋白互作网络图映射至 Cytoscape 软件, 使用 Cytohubba 插件, 按 MCC 算法筛选排名前 5 的靶点 (表 2)。肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素 (IL)-1B、转录因子 AP-1 (JUN)、

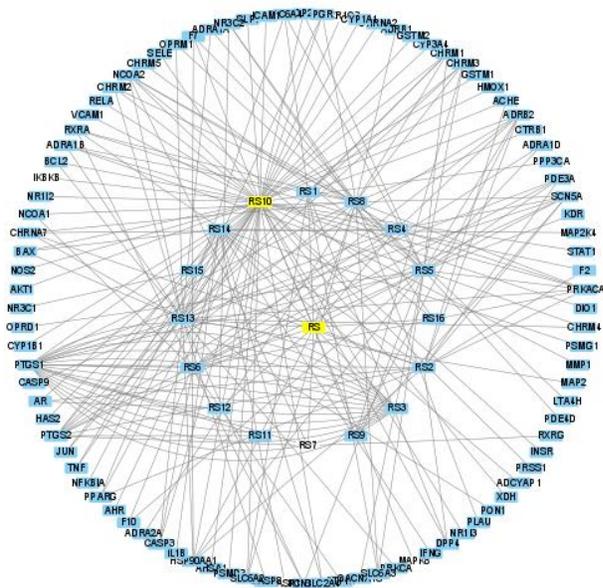


图 2 人参“药物-成分-靶标”网络图

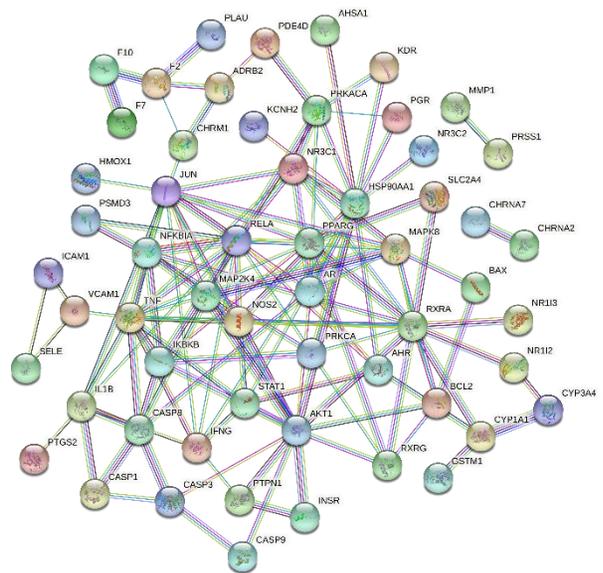
Fig. 2 *Ginseng Radix et Rhizoma* “drug - ingredient - target” network diagram

图 3 人参抗阿尔茨海默病作用靶点 PPI 网络图

Fig. 3 PPI network diagram of *Ginseng Radix et Rhizoma* anti-Alzheimer's disease action targets

表 2 MCC 算法提取核心靶点

Table 2 MCC algorithm for extracting core targets

排序	核心靶点	集团中心度
1	TNF	17 804
2	IL-1B	17 286
3	JUN	16 531
4	AKT-1	15 572
5	NFKBIA	14 516

丝氨酸/苏氨酸激酶 1 (AKT1)、NF- $\kappa$ B 抑制因子  $\alpha$  (NFKBIA) 这些蛋白在该网络中具有较大的集团中心度, 可认为这 5 个靶标即为核心靶标, 而按照默认设置提取核心子网络 (图 4), TNF、IL1B、干扰素  $\gamma$  (IFNG)、一氧化氮合酶 2 (NOS2)、胱天蛋白酶 8 (CASP8)、RELA、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、NFKBIA、B 细胞  $\kappa$  轻链基因增强子抑制因子 (IKBKB)、血红素加氧酶 1 (HMOX1)、过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPARG) 之间的网络联系可能在人参抗阿尔茨海默病发病机制中发挥重要作用。

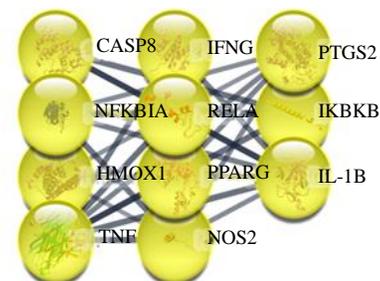


图 4 人参抗阿尔茨海默病靶点核心子网络

Fig. 4 *Ginseng Radix et Rhizoma* anti Alzheimer's disease target core subnetwork

### 3.5 GO 和 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 数据库, 对人参和阿尔茨海默病共同靶标进行 GO 富集, 设置  $P < 0.001$  进行筛选。集中选择对 GO 功能聚类分析排名靠前的聚类进行说明。其中生物学功能涉及腺苷酸环化酶抑制 G 蛋白偶联乙酰胆碱受体信号通路、突触传递, 胆碱能信号传导、磷脂酶 C 激活 G 蛋白偶联乙酰胆碱受体信号通路、G 蛋白偶联乙酰胆碱受体信号通路、细胞增殖; 在细胞组分中, 人参对突触的影响较大; 在分子功能上, 人参对 G 蛋白偶联乙酰胆碱受体活性、乙酰胆碱结合等影响较大, 见图 5。

通过 KEGG 通路分析, 共富集到 52 条通路 ( $P < 0.001$ ), 人工筛选其中的信号通路, 涉及 TNF、NOD 样受体、Toll 样受体、核因子  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、钙、脂肪细胞因子、环磷酸腺苷 (cAMP)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)、缺氧诱导因子-1 (HIF-1)、T 细胞受体、甲状腺激素、环磷酸鸟苷-蛋白激酶 G (cGMP-PKG)、神经营养因子、鞘脂、血管内皮生长因子 (VEGF)、心肌细胞中的肾上腺素能、B 细胞受体、RIG-I 样受体、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 等 19 条信号通路, 见图 6。

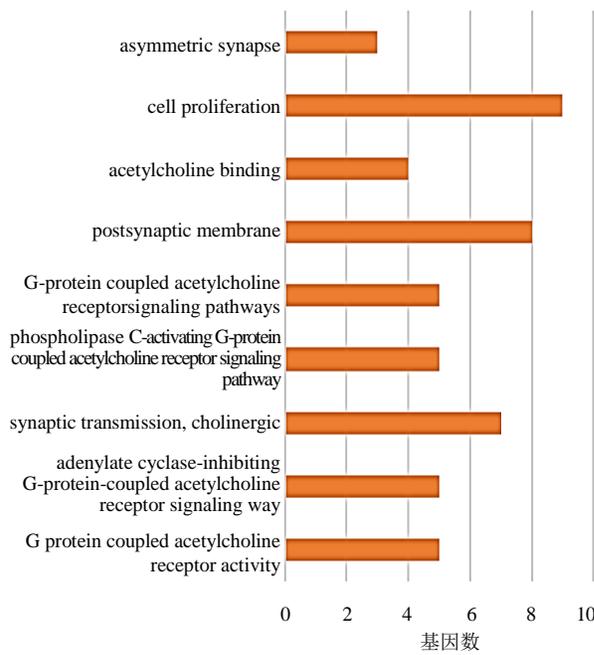


图 5 共同作用靶点 GO 聚类

Fig. 5 GO clustering of co-acting targets

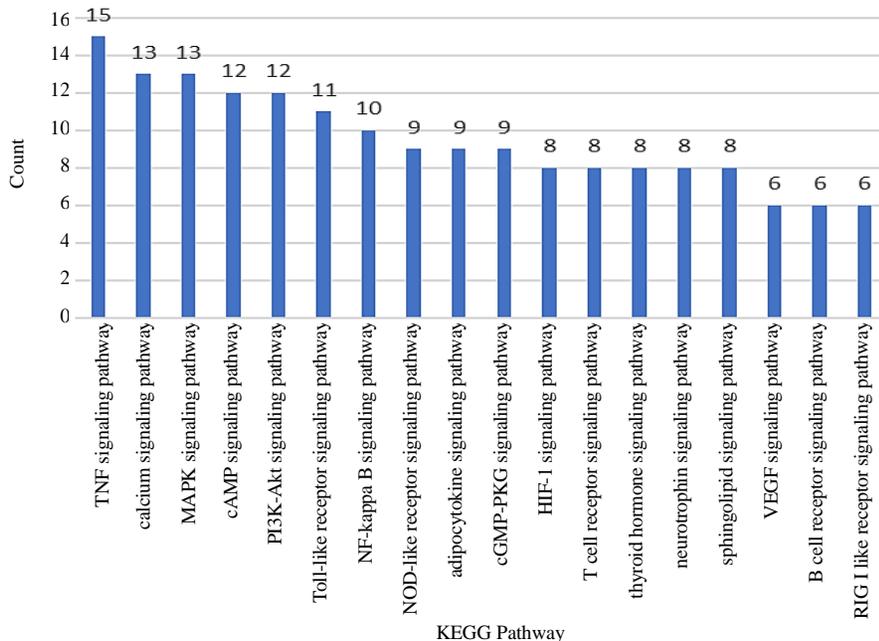


图 6 共同作用靶点富集 KEGG 信号通路

Fig. 6 Co-acting target enriches KEGG signal pathway

因介导 HIF-1、TNF、T 细胞受体、Toll 样受体、神经营养因子、cAMP、MAPK、NOD 样受体等信号通路调控铁死亡途径，从而延缓阿尔茨海默病的发生及进展。另外，本研究发现，人参活性成分调控铁死亡途径的靶点与人参参与阿尔茨海默病的核心靶点及核心蛋白质网络高度重合，推测人参主要通过

### 3.6 铁死亡调控因子的获取及其与人参、阿尔茨海默病 3 者共同基因筛选和分析

在 FerrDb 数据库中获得铁死亡过程驱动因子 108 个，抑制因子 109 个，标记物 123 个，汇总后除去重复值，共得到 260 个与铁死亡过程相关的基因。将这 260 个基因与上述筛选的 84 个公共基因进行 Venn 分析，共得到 7 个基因既是人参的作用靶点也是阿尔茨海默病治疗靶点，同时为铁死亡过程调控基因(图 7)，分别为 HMOX1、NOS2、PTGS2、IFNG、MAPK8、JUN 和 RELA。对这 7 个基因进行 KEGG 通路分析，筛选条件为  $P < 0.05$ ，人为去除非信号通路后，共得到 HIF-1、TNF、T 细胞受体、Toll 样受体、神经营养因子、cAMP、MAPK、NOD 样受体等 7 条信号通路(图 8)。

对上述 7 个基因绘制蛋白质相互作用网络图(图 9)，结果显示，这 7 个基因之间无须其他基因参与即可互相作用，联系紧密。结合之前的分析结果，我们推测人参活性成分可以通过靶向 HMOX1、NOS2、PTGS2、IFNG、MAPK8、JUN、RELA 基

调控铁死亡途径对抗阿尔茨海默病发挥重要作用。

## 4 讨论

研究表明，阿尔茨海默病主要由 Aβ 的沉积、Tau 蛋白的过度磷酸化、代谢障碍、雌激素的减少以及 2 型糖尿病 (T2DM) 等多因素引发<sup>[11]</sup>。对阿尔茨海默病准确的预防和治疗措施尚不明确，目前

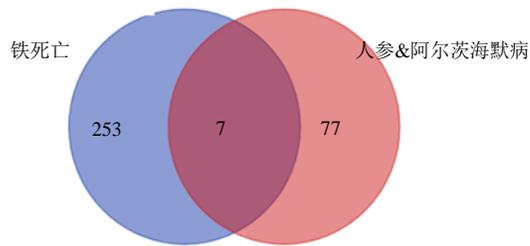


图 7 人参调控铁死亡抗阿尔茨海默病的靶点

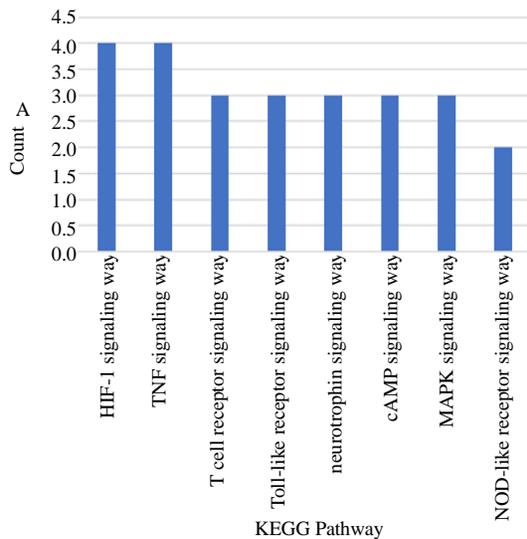
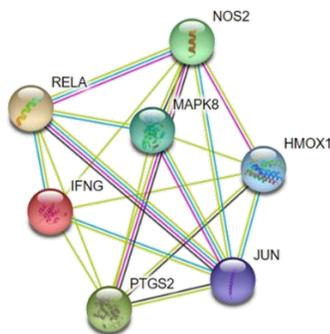
Fig. 7 Targets of *Ginseng Radix et Rhizoma* regulating ferroptosis against Alzheimer's disease

图 8 人参调控铁死亡抗阿尔茨海默病的信号通路

Fig. 8 *Ginseng Radix et Rhizoma* regulates the signal pathway of ferroptosis against Alzheimer's disease图 9 人参调控铁死亡抗阿尔茨海默病靶点间的 PPI 网络图  
Fig. 9 PPI network diagram of *Ginseng Radix et Rhizoma* regulating ferroptosis and anti Alzheimer's disease targets

只能根据其发病原因采取相应的预防和治疗措施。近年研究发现,铁稳态失调、脂质过氧化和谷胱甘肽/谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GSH/GPX4) 轴与阿尔茨海默病密切相关,这些病理事件是铁死亡的重要调节因子,提示它可能参与了阿尔茨海默病的病理过程<sup>[12]</sup>。

本研究通过 OB 和 DL 筛选出 16 个有对应靶标的人参有效活性成分。这些药物靶点的预测不仅揭示了人参药物分子作用机制,而且对促进人参相关药物研发具有重要意义。本研究最终得到人参抗阿尔茨海默病的 1 个重要活性成分—山柰酚,并得到以 TNF、IL1B、JUN、AKT1、NFKBIA 等为核心的 84 个人参抗阿尔茨海默病的作用靶标和 TNF、MAPK、PI3K-Akt、NF- $\kappa$ B 等 19 条信号通路。对铁死亡调控基因进行筛选并与人参和阿尔茨海默病一起分析,得到 HMOX1、NOS2、PTGS2、IFNG、MAPK8、JUN、RELA 7 个靶点,推测人参可能通过这些靶点介导 TNF、HIF-1、T 细胞受体、Toll 样受体、神经营养因子、cAMP、MAPK、NOD 样受体等信号通路调控铁死亡,并在阿尔茨海默病中起作用。

山柰酚是人参花蕾乙醇提取成分之一,是很多植物蔬菜中含有的一种生物类黄酮,具有清除自由基的能力。在小鼠海马 HT22 细胞系氧化应激诱导的铁死亡中,山柰酚通过多种抗氧化机制减轻铁死亡,如抑制细胞内 ROS 和线粒体超氧阴离子的产生并增加细胞内  $Ca^{2+}$  浓度,诱导 ARE 并激活核因子红细胞 2 相关因子 2 (Nrf2) -ARE 通路,参与预防氧化应激发挥神经保护作用<sup>[13]</sup>。

铁死亡是铁依赖的细胞内脂质活性氧积累造成的细胞氧化性死亡形式。近年来,多种基因和其编码蛋白被鉴定出可以调控铁死亡的进程,其中包括文中分析出的几种基因。据报道,HMOX1 编码血红素加氧酶 1 (HO-1) 是铁死亡过程中铁依赖性脂质过氧化的必需酶。实验发现,HO-1 表达增加会加速铁死亡进程<sup>[14]</sup>。NOS2 编码一氧化氮合酶 2,被鉴定出在由 erastin 或 RSL3 诱导的铁死亡期间表达上调,推断为铁死亡标记<sup>[15]</sup>。PTGS2 编码前列腺素 G/H 合酶 2,是用 erastin 或(1S, 3R)-RSL3 处理后 BJeLR 细胞中上调最多的基因,为铁死亡的下游标记,可能促进铁死亡<sup>[15]</sup>。IFNG 编码干扰素  $\gamma$ ,研究发现,CD8<sup>+</sup> T 细胞释放的干扰素  $\gamma$  下调 SLC3A2 和 SLC7A11 的表达,从而促进肿瘤细胞脂质过氧化和铁死亡<sup>[16]</sup>。MAPK8 又名 JNK,编码 JUN N-末端激酶,参与 JNK1 级联。JNK1/2 抑制剂可以抑制铁死亡,且铁死亡诱导剂处理显著增加了 p-JNK 的蛋白表达<sup>[17]</sup>。JUN 为一种原癌基因,在肝癌样本中,c-JUN 的过表达促进谷胱甘肽合成,从而抑制了铁死亡<sup>[18]</sup>。RELA 为原癌基因,编码 NF- $\kappa$ B 的

p65 亚基,在用铁死亡抑制剂处理后出现下调<sup>[9]</sup>,提示其可能参与调控铁死亡。本研究所分析出的这 7 种核心基因都可以通过直接或间接作用参与铁死亡进程,靶向这些基因进行铁死亡治疗可能是之后研究的方向。

人参作为传统中药,在神经退行性疾病方面的应用比较广泛。铁死亡与铁代谢及氧化应激关系密切。近年研究提示,人参活性成分可通过调节铁代谢,减轻氧化应激等发挥神经保护作用。但人参调节铁死亡发挥神经保护作用的潜能及机制尚未被挖掘。本研究通过数据库挖掘分析出多条与铁死亡可能相关的信号通路,这些通路在人参活性成分的抗病机制中同样发挥重要作用。神经 TNF 信号通路由 TNF- $\alpha$  触发,可以激活 PI3K-Akt、MAPK、和 NF- $\kappa$ B 等多条途径,实现其细胞毒性、抗病毒、免疫调节、细胞凋亡等生物学功能。MAPK 信号通路的异常在 tau 蛋白过度磷酸化、炎症因子的释放、突触损耗、细胞凋亡等方面与阿尔茨海默病发生发展密切相关<sup>[20]</sup>。另外,人参皂苷 Rg<sub>2</sub> 可以通过激活 PI3K/Akt 信号通路改善 A $\beta$  沉积引起的大鼠认知功能障碍<sup>[21]</sup>。人参皂苷 Re 可明显提高小鼠海马区 BDNF、Nrf2/HO-1 轴的表达,改善氧化应激并减少小鼠的神经元丢失<sup>[22]</sup>。据报道,星形胶质细胞中脑源性神经营养因子介导的 Nrf2 激活可以保护多巴胺能神经元免受铁死亡<sup>[23]</sup>。人参皂苷 Rh<sub>2</sub> 在东莨菪碱诱导的小鼠记忆障碍模型中通过调节胆碱能传递、抑制氧化应激和激活 ERK/CREB/BDNF 信号通路,对神经起到保护作用<sup>[24]</sup>。铁死亡与氧化应激存在相同的致病机制,即活性氧蓄积导致细胞损伤和死亡。有学者认为,氧化应激中包含着铁死亡,铁死亡应该是氧化应激中重要的一环<sup>[25]</sup>。此外,大量体外实验提示铁稳态在调节免疫和炎症反应中的起重要作用<sup>[26]</sup>。而细胞发生铁死亡后会释放大量激活天然免疫的因子,如 DAMPs 等,激活炎性信号通路,释放炎性因子,募集炎症细胞,扩大炎症反应。因此,铁死亡与免疫及炎症反应也可能存在联系。令人欣喜的是,减轻炎症反应和增强免疫功能是人参活性成分的重要作用机制。人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 可能通过 G 蛋白偶联雌激素受体(GPER)抑制 MAPKs 及核因子  $\kappa$ B 的抑制蛋白(I $\kappa$ B)信号通路的激活,抑制小胶质细胞炎症反应<sup>[27]</sup>。人参三醇通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号传导通路而抑制脂多糖诱导的小胶质细胞活化<sup>[28]</sup>,从而改善脑部炎症和神经元死亡。而 T

细胞受体、Toll 样受体和 NOD 样受体信号通路均为机体免疫相关信号通路。综上,人参已知的多种作用机制与铁死亡可能存在关联,其内在的深层次联系需要后续大量实验验证。

目前的研究发现铁死亡参与了阿尔茨海默病的发病机制,为阿尔茨海默病的治疗提供了新的策略。作为一种新的细胞死亡方式,其靶向药物的开发尚在进行中。本研究发现人参可能通过靶向多个基因,激活多条信号通路调控铁死亡过程而抗阿尔茨海默病。这些发现系统地阐明了人参在阿尔茨海默病中的功能和潜在机制,为改善阿尔茨海默病提供了一种新的药物,对阿尔茨海默病的研究具有重要价值。但本研究仅对人参调控铁死亡在阿尔茨海默病治疗中机制进行了初步探究,尚需大量研究证实该结果的可靠性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Chen K, Jiang X, Wu M, *et al.* Ferroptosis, A potential therapeutic target in Alzheimer's disease [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 704298.
- [2] Li J, Huang Q, Chen J, *et al.* Neuroprotective potentials of *Panax Ginseng* against Alzheimer's disease: A review of preclinical and clinical evidences [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 688490.
- [3] 郑丽娜. 人参皂苷 Re 对  $\beta$ -淀粉样蛋白诱导神经元损伤的保护作用及其机制研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2019.
- [4] Gong Y, Liu Y, Zhou L, *et al.* A UHPLC-TOF/MS method based metabonomic study of total ginsenosides effects on Alzheimer disease mouse model [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2015, 115: 174-182.
- [5] Li J, Lu K, Sun F, *et al.* Panaxydol attenuates ferroptosis against LPS-induced acute lung injury in mice by Keap1-Nrf2/HO-1 pathway [J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 96.
- [6] Zhou L, Chen L, Zeng X, *et al.* Ginsenoside compound K alleviates sodium valproate-induced hepatotoxicity in rats via antioxidant effect, regulation of peroxisome pathway and iron homeostasis [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 386: 114829.
- [7] Du X, Xu H, Jiang H, *et al.* Akt/Nrf2 activated upregulation of heme oxygenase-1 involves in the role of Rg1 against ferrous iron-induced neurotoxicity in SK-N-SH cells [J]. *Neurotox Res*, 2013, 24(1): 71-79.
- [8] 赵苗青, 李丰, 石彬彬, 等. 系统药理学(VI)—TCMSP

- 数据库及其应用 [J]. 中医药信息, 2020, 37(3): 22-29.
- [9] 宋厚盼, 刘恒铭, 仇婧玥, 等. 胃癌发病关键基因调控网络构建及其靶向治疗中药活性成分筛选研究 [J]. 中草药, 2021, 52(22): 6939-6952.
- [10] Zhou N, Bao J. FerrDb: A manually curated resource for regulators and markers of ferroptosis and ferroptosis-disease associations [J]. *Database (Oxford)*, 2020: baaa021.
- [11] 米日妮萨·凯才尔, 闫楚涵, 郭慧芳, 等. 阿尔茨海默病的发病机制及相关研究进展 [J]. 解剖学研究, 2021, 43(3): 276-281.
- [12] Zhang G, Zhang Y, Shen Y, *et al.* The potential role of ferroptosis in Alzheimer's disease [J]. *J Alzheimers Dis*, 2021, 80(3): 907-925.
- [13] Takashima M, Ichihara K, Hirata Y. Neuroprotective effects of Brazilian green propolis on oxytosis/ferroptosis in mouse hippocampal HT22 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 132: 110669.
- [14] Kwon M Y, Park E, Lee S J, *et al.* Heme oxygenase-1 accelerates erastin-induced ferroptotic cell death [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(27): 24393-24403.
- [15] Yang W S, Sriramaratnam R, Welsch M E, *et al.* Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4 [J]. *Cell*, 2014, 156(1-2): 317-331.
- [16] Wang W, Green M, Choi J E, *et al.* CD8<sup>+</sup> T cells regulate tumour ferroptosis during cancer immunotherapy [J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 270-274.
- [17] Wu C, Zhao W, Yu J, *et al.* Induction of ferroptosis and mitochondrial dysfunction by oxidative stress in PC12 cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 574.
- [18] Dixon S J, Patel D N, Welsch M, *et al.* Pharmacological inhibition of cystine-glutamate exchange induces endoplasmic reticulum stress and ferroptosis [J]. *Elife*, 2014, 3: e2523.
- [19] Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, *et al.* Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(47): 16836-16841.
- [20] 张郡, 梁芙茹. p38 MAPK 信号传导通路阿尔茨海默病的相关性研究进展 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(20): 197-198.
- [21] Cui J, Shan R, Cao Y, *et al.* Protective effects of ginsenoside Rg<sub>2</sub> against memory impairment and neuronal death induced by A $\beta$ 25-35 in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113466.
- [22] Wang H, Lv J, Jiang N, *et al.* Ginsenoside Re protects against chronic restraint stress-induced cognitive deficits through regulation of NLRP3 and Nrf2 pathways in mice [J]. *Phytother Res*, 2021, doi: 10.1002/ptr.6947.
- [23] Ishii T, Warabi E, Mann G E. Circadian control of BDNF-mediated Nrf2 activation in astrocytes protects dopaminergic neurons from ferroptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 133: 169-178.
- [24] Lv J, Lu C, Jiang N, *et al.* Protective effect of ginsenoside Rh<sub>2</sub> on scopolamine-induced memory deficits through regulation of cholinergic transmission, oxidative stress and the ERK-CREB-BDNF signaling pathway [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(1): 337-345.
- [25] 张宇, 孙文爽, 赵建宁, 等. 铁死亡与氧化应激的关系及其在运动系统疾病中的研究进展 [J]. 医学研究生学报, 2020, 33(4): 438-442.
- [26] Mu Q, Chen L, Gao X, *et al.* The role of iron homeostasis in remodeling immune function and regulating inflammatory disease [J]. *Sci Bull*, 2021, 66(17): 1806-1816.
- [27] 高先琦. 人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 通过 G 蛋白耦联雌激素受体抑制 BV2 小胶质细胞炎症反应的实验研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2015.
- [28] Hiramatsu G, Uta D, Mihara K, *et al.* Inhibitory effect of panaxytriol on BV-2 microglial cell activation [J]. *J Pharmacol Sci*, 2021, 145(3): 273-278.

[责任编辑 高源]