

基于网络药理学的参芪降糖颗粒治疗2型糖尿病机制探讨

张晶^{1,2}, 李冰冰³, 黄敏仪^{1,2}, 谭丽萍³, 肖雪^{1,2}, 张贵民³, 郭姣^{1,2*}

1. 广东药科大学 广东省代谢病中西医结合研究中心, 广东 广州 510006

2. 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广东 广州 510006

3. 鲁南制药集团股份有限公司 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276000

摘要: **目的** 运用网络药理学的方法探讨参芪降糖颗粒治疗2型糖尿病的作用机制。**方法** 通过文献挖掘和数据库检索获取参芪降糖颗粒的活性成分、作用靶点及与2型糖尿病相关的疾病靶点, 通过 Enrichr 数据库进行基因本体论 (GO) 分析和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路分析, 并运用 Cytoscape 3.5.1 软件绘制网络互作图, imageGP 工具绘制 GO 和 KEGG 气泡图。**结果** 研究得到 43 个关键活性成分和 30 个关键靶点, GO 富集分析有 918 个条目, 包含细胞组分 (CC) 条目 56 个、分子功能 (MF) 条目 99 个和生物学进程 (BP) 条目 763 个, 其中 CC 主要涉及轴突轴膜、核转录因子复合物、RNA 聚合酶 II 转录因子复合物、核常染色质、血小板 α 颗粒; MF 主要涉及 MAP 激酶活性、血管内皮生长因子受体结合等方面; BP 主要涉及血管生成、泡沫细胞分化、白细胞介素-21 的细胞反应等方面。KEGG 通路富集分析包含 KEGG 通路 105 条, 主要与 IL-17 信号通路、糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路、VEGF 信号通路、线粒体自噬等信号通路有着密切联系。**结论** 参芪降糖颗粒可能通过作用于神经内分泌失调、胰岛素抵抗、氧化应激、炎症等相关的靶点及通路, 起到治疗2型糖尿病的作用。

关键词: 参芪降糖颗粒; 2型糖尿病; 网络药理学; 关键靶点; 作用机制; 信号通路; 胰岛素抵抗; 氧化应激

中图分类号: R285.52 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)19-4873-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.19.004

Mechanism of Shenqi Jiangtang Granules in treatment of type 2 diabetes based on network pharmacology

ZHANG Jing^{1,2}, LI Bing-bing³, HUANG Min-yi^{1,2}, TAN Li-ping³, XIAO Xue^{1,2}, ZHANG Gui-min³, GUO Jiao^{1,2}

1. Guangdong Metabolic Disease Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Guangdong Key Laboratory of Metabolic Disease Prevention and Treatment of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

3. State Key Laboratory of Generic Manufacture Technology of Chinese Traditional Medicine, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Shenqi Jiangtang Granules in treatment of type 2 diabetes mellitus by network pharmacology. **Methods** The active components and targets of Shenqi Jiangtang Granules and targets associated with type 2 diabetes were obtained by literature mining and database. Enrichr database was used to analyze gene ontology enrichment and Kyoto gene and genome encyclopedia. In addition, Cytoscape 3.5.1 software was used to draw network interaction diagrams, and imageGP tool was used to draw GO and KEGG bubble diagrams. **Results** A total of 43 key active ingredients and 30 key targets were obtained. GO enrichment analysis included 918 items, including 56 cell component (CC) entries, 99 molecular function (MF) entries, and 763 biological process (BP) entries. CC entries were related to axonal membrane, nuclear transcription factor complex, RNA polymerase II transcription factor complex, nuclear euchromatin, and platelet α granule. MF entries were mainly related to MAP kinase activity, vascular endothelial growth factor receptor binding and other aspects. BP entries were related to biological processes, mainly including angiogenesis, foam cell differentiation, and cellular response to interleukin-21. The KEGG pathway enrichment analysis included 105

收稿日期: 2020-01-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1704200, 2018YFC1704205); 国家自然科学基金重点项目 (81530102, 81830113)

作者简介: 张晶 (1995—), 女, 在读硕士研究生, 从事中西医结合防治糖脂代谢病研究。Tel: (020)39353115 E-mail: zjsjh@foxmail.com

*通信作者 郭姣, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 从事中西医结合防治糖脂代谢病研究。E-mail: gyguoyz@163.com

KEGG pathways, which were closely related to IL-17 signaling pathway, AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications, VEGF signaling pathway, mitophagy and other signaling pathways. **Conclusion** Shenqi Jiangtang Granules may play a role in treatment of type 2 diabetes by acting on neuroendocrine disorders, insulin resistance, oxidative stress, inflammation, and other related protein targets and pathways.

Key words: Shenqi Jiangtang Granules; type 2 diabetes; network pharmacology; potential target; mechanism; signaling pathway; insulin resistance; oxidative stress

2 型糖尿病是一种由遗传和环境因素相互作用引起的慢性代谢性疾病, 占糖尿病患者的 90% 以上^[1]。目前, 糖尿病患病情况形势严峻, 调查发现我国 20~79 岁人群中糖尿病患病人数约占全球糖尿病患者总数的 1/4, 居世界第 1 位, 且世界卫生组织预测至 2025 年全球糖尿病患者总数将突破 3 亿^[2]。西医认为糖尿病主要病变在于胰岛素分泌缺陷、胰岛素抵抗及脂质代谢紊乱, 进而导致大血管和微血管并发症。中医认为糖尿病归属“消渴病”范畴, 其基本病机为阴虚燥热, 气血津液失调; 临床多以气阴两虚为主^[3]。目前临床对 2 型糖尿病患者, 多采取口服降糖药物、皮下注射胰岛素等方式, 然而患者的血糖控制达标率不足 1/3^[4]。中医药注重整体辨治, 未病先防, 其合理开发应用对 2 型糖尿病的防治有着非常重要的临床意义。

参芪降糖颗粒是由山东鲁南制药股份有限公司研制, 由人参(茎叶)皂苷、黄芪、五味子、山药、地黄、覆盆子、麦冬、茯苓、天花粉、泽泻、枸杞子 11 味中药组成, 具有益气养阴、滋脾补肾的功效, 主治消渴症。临床上主要用于治疗气阴两虚、脾肾不足型糖尿病及其并发症患者, 效果良好, 与西药联合使用可增加临床疗效, 减少不良反应发生^[5]。

目前, 针对参芪降糖颗粒的研究无论是临床观察还是实验研究, 都未能精准明确地指出该药物的有效活性成分、体内作用靶点和作用机制。网络药理学利用计算机科学、分子生物学和药学等学科的成果, 可以从整体上对中药物质基础和药理作用的现代内涵进行多层次的解析^[6]。本研究拟通过网络药理学方法预测参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病的潜在作用靶点和作用机制, 为糖尿病的临床干预治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 参芪降糖颗粒活性成分筛选

利用数据库 TCMSP (<http://ibts.hkbu.edu.hk/LSP/tcmsp.php>)^[7]、TCMID (<http://www.megabionet.org/tcmid/>)^[8]结合文献挖掘的方法收集参芪降糖颗

粒 11 味药的主要化学成分。根据成分的毒理学动力学 (ADME) 参数进行筛选, 其中筛选条件为药物口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 、类药性 (DL) ≥ 0.18 ^[9]。针对筛选出的参芪降糖颗粒活性成分, 通过其 CAS 号在有机小分子生物活性数据库 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/>)^[10]搜索各成分简化分子线性输入规范 SMILES (Simplified molecular input line entry specification)。

1.2 活性成分潜在靶点反向预测

Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)^[11]服务器是一个基于反向分子对接技术能精确预测生物活性分子靶点的服务器, 它是根据已知配体的 2D 和 3D 相似性联合检测而进行的预测, 且能在 5 种不同的生物中进行相应预测。首先登陆该服务器, 选择物种 “Homo sapiens”, 然后输入 “1.1” 项中搜索到的 smiles 式, 提交, 得到所选成分潜在靶点的预测结果。

1.3 2 型糖尿病靶点预测

GeneCards 数据库 (<http://www.genecards.org/>)^[12]是一个自动集成来自 125 个网络源的以基因为中心的, 包括基因组、转录、蛋白质组、遗传、临床和功能信息可搜索、综合的数据库。登录 GeneCards, 输入关键词 “Type 2 diabetes” “T2DM” “Diabetes mellitus type 2”, 得到与 2 型糖尿病相关的基因, 以相关性分数 (Relevance score) ≥ 30 作为筛选条件, 筛选结果作为疾病的候选靶点基因。

1.4 网络构建

通过活性成分、反向靶点预测结果得到成分-靶点关系, 利用 Cytoscape 3.5.1 (<http://www.cytoscape.org/>)^[13]软件构建成分-靶点网络; 利用韦恩图 (Venn diagram) 得到成分靶点与疾病靶点的交集, 即潜在靶点, 导入 STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins, Version: 10.5, <http://string-db.org/>), 1 个用于搜寻已知蛋白质之间和预测蛋白质之间相互作用的系统^[14]。选用 Multiple proteins 工具, 限定物种为 “人”, 获取蛋白相互作用, 并保

存其 TSV 格式文件。将文件中的 node1、node2 和 combined score 信息导入 Cytoscape 3.5.1 软件绘制蛋白相互作用 (PPI) 网络, 并进行网络拓扑结构分析, 以节点度 (degree) 值反映靶点大小和颜色, 从而构建蛋白互作网络。

将成分-靶点网络与蛋白互作网络进行 merge, 最终得到疾病-成分-靶点网络。

网络图中代表化学成分、靶点、疾病的点称为节点。并运用 Cytoscape 3.5.1 中的插件 Network Analyzer 分析网络拓扑参数 degree, 筛选出 degree 高于平均值的节点进一步构建疾病-成分-靶点核心网络。

1.5 网络分析

Enrichr (<https://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr3/>) 是一个全面的基因富集分析网站^[15], 共包含来自 102 个基因集库的 180 184 个带注释的基因集, 通过 Enrichr 在线网站对筛选得到的参芪降糖颗粒干预 2 型糖尿病潜在的核心靶点基因进行结合基因本体论 (gene ontology, GO) 分析和京都基因和基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路分析。依据 combined score 值, 选取排名前 15 项目, 利用 image GP 工具 (<http://www.ehbio.com/ImageGP/>) 依次绘制参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病涉及的细胞组分 (cellular component, CC) 分析、分子功能 (molecular function, MF) 分析、生物学进程 (biological process, BP) 分析和 KEGG 通路富集分析的气泡图。

2 结果

2.1 活性成分筛选

经过数据库 (截止时间 2019 年 1 月 30 日) 查询, 查找出各个中药含有的化学成分分别为黄芪 87 个、北五味 130 个、山药 71 个、生地黄 49 个、覆盆子 110 个、麦冬 56 个、茯苓 34 个、天花粉 15 个、泽泻 46 个、枸杞子 188 个, 经 OB ($\geq 30\%$)、DL (≥ 0.18) 筛选后, 参芪降糖颗粒一共有活性成分 87 个, 见表 1。研究表明人参茎叶皂苷具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、保肝护心、提高免疫、促进细胞增殖、缓解疲劳、降低血清脂质含量、抑制血清丙二醛 (MDA) 升高以及很好的抗氧化作用^[16-18], 在参芪降糖颗粒中, 原药材未用人参而直接选用人参茎叶皂苷, 虽然其 OB、DL 值不符, 但考虑其药理作用, 结合相关文献报道和数据库, 共筛选出人参茎叶皂苷中 12 种入血原型成分, 分别为人参皂苷

Rg₁、Rg₃、Rg₂、Rb₁、Rb₂、Rh₁、Rh₂、Rc、Rf、Re、F₂ 和拟人参皂苷 F₁₁。

其他中药所含活性成分依次为黄芪 10 个、北五味 8 个、山药 8 个、生地黄 1 个、覆盆子 2 个、茯苓 11 个、天花粉 2 个、泽泻 5 个、枸杞子 20 个, 另外槲皮素 (quercetin) 是黄芪、枸杞子、覆盆子的共同化学成分, 山柰酚 (kempferol) 是黄芪、覆盆子的共同化学成分, 常春藤皂苷元 (hederagenin) 是黄芪、茯苓的共同化学成分, β -谷甾醇 (β -sitosterol) 是生地黄、麦冬、覆盆子的共同化学成分, 谷甾醇 (sitosterol) 是枸杞子、覆盆子、泽泻的共同化学成分, 豆甾醇 (stigmasterol) 是麦冬、枸杞子、山药的共同化学成分, 菜油甾醇 (campesterol) 是生地黄、枸杞子、山药的共同化学成分, 胆固醇 (CLR) 是枸杞子、山药的共同化学成分。

2.2 化学成分靶点预测

通过 SwissTargetPrediction 服务器虚拟筛选, 共得到成分靶点基因 292 个, 均为 UniProt 统一命名。进而得到成分-靶点关系 1 314 对, 用 Excel 表格整理。

2.3 疾病靶点预测

通过 GeneCards 数据库检索 2 型糖尿病, 共得到 10 321 个与 2 型糖尿病相关的基因, 经筛选最终得到 546 个基因作为疾病候选靶点基因。

2.4 网络构建

2.4.1 成分-靶点网络构建 将得到的成分-靶点关系以 Excel 格式导入 Cytoscape 3.5.1 软件中, 设置网络节点、边等基本属性, 得到成分-靶点网络如图 1 所示。该网络共包含 379 个节点, 1 314 条边, 其中 87 个节点代表活性成分, 292 个节点代表与活性成分相关的靶点基因, 1 种成分对应多个靶点, 1 个靶点也对应多种成分, 体现了中药复方多成分、多靶点的特点。以 degree 值反映靶点大小, degree > 20 的成分靶点有 TDPI、MAPT、AR、CYP19A1、NR1H2、NR1H3、HMGCR。网络平均邻居节点数为 6.934。

2.4.2 PPI 网络构建 利用韦恩图得到成分和疾病共有潜在靶点 66 个, 导入 STRING 获得蛋白相互作用, 保存其为 TSV 格式文件。将文件中的 node1、node2 和 combined score 信息导入 Cytoscape 3.5.1 软件绘制 PPI 网络, 并进行网络拓扑结构分析, 以 combined score 值反映边的粗细, 以节点 degree 值反映靶点大小和颜色, 从而构建蛋白互作网络, 如图 2 所示。该网络共有 66 个节点和 540 条边, 网络平均邻居节点数为 16.364。

表1 参芪降糖颗粒活性成分筛选结果

Table 1 Screening results of active ingredients of Shenqi Jiangtang Granules

编号	中药	化学成分	OB/%	DL	编号	中药	化学成分	OB/%	DL
RS1	人参茎叶皂苷	pseudo ginsenoside F ₁₁	22.77	0.19	GQZ19	枸杞子	ipolamiide	39.43	0.47
RS2	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rg ₃	12.43	0.22	GQZ20	枸杞子	physalin A	91.71	0.27
RS3	人参茎叶皂苷	ginsenoside F ₂	37.03	0.25	BWW1	北五味	gomisin A	30.69	0.78
RS4	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rb ₂	6.02	0.04	BWW2	北五味	tigloylgomisin P	30.71	0.83
RS5	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rc	8.16	0.04	BWW3	北五味	angeloylgomisin O	31.97	0.85
RS6	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rh ₁	3.86	0.57	BWW4	北五味	gomisin G	32.68	0.83
RS7	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rg ₂	17.76	0.25	BWW5	北五味	gomisin R	34.84	0.86
RS8	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rb ₁	6.24	0.04	BWW6	北五味	deoxyharringtonine	39.27	0.81
RS9	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rf	17.74	0.24	BWW7	北五味	schisandrin C	46.27	0.84
RS10	人参茎叶皂苷	ginsenoside Rg ₁	9.03	0.28	BWW8	北五味	longikaurin A	47.72	0.53
RS11	人参茎叶皂苷	20-(R)-ginsenoside Rh ₂	6.54	0.56	FPZ1	覆盆子	ellagic acid	43.06	0.43
RS12	人参茎叶皂苷	ginsenoside Re	4.27	0.12	FPZ2	覆盆子	ammidin	34.55	0.22
HQ1	黄芪	calycosin	47.75	0.24	SY1	山药	piperlonguminine	30.71	0.18
HQ2	黄芪	formononetin	69.67	0.21	SY2	山药	(-)-taxifolin	60.51	0.27
HQ3	黄芪	bifendate	31.10	0.67	SY3	山药	kadsurenone	54.72	0.38
HQ4	黄芪	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30	SY4	山药	hancinone C	59.05	0.39
HQ5	黄芪	3,9-di-O-methylisomucronulatol	53.74	0.48	SY5	山药	isofucosterol	43.78	0.76
HQ6	黄芪	isorhamnetin	49.60	0.31	SY6	山药	diosgenin	80.88	0.81
HQ7	黄芪	(24S)-24-propylcholesta-5-ene-3β-ol	36.23	0.78	SY7	山药	denudatin B	61.47	0.38
HQ8	黄芪	jaranol	50.83	0.29	SY8	山药	hancinol	64.01	0.37
HQ9	黄芪	mairin	55.38	0.78	FL1	茯苓	stella-sterol	43.51	0.72
HQ10	黄芪	isoflavanone	109.99	0.30	FL2	茯苓	ergosterol peroxide	40.36	0.81
SD1	生地	coniferin	31.11	0.32	FL3	茯苓	trametenolic acid	38.71	0.80
THF1	天花粉	schottenol	37.42	0.75	FL4	茯苓	cerevisterol	37.96	0.77
THF2	天花粉	spinasterol	42.98	0.76	FL5	茯苓	16α-hydroxydehydrotrametenolic acid	30.93	0.81
GQZ1	枸杞子	sitosterol α	43.28	0.78	FL6	茯苓	dehydroeburicoic acid	44.17	0.83
GQZ2	枸杞子	cycloartenol	38.69	0.78	FL7	茯苓	eburicoic acid	38.70	0.81
GQZ3	枸杞子	mandenol	42.00	0.19	FL8	茯苓	poricoic acid C	38.15	0.75
GQZ4	枸杞子	ethyl linolenate	46.10	0.20	FL9	茯苓	pachymic acid	33.63	0.81
GQZ5	枸杞子	LAN	42.12	0.75	FL10	茯苓	poricoic acid A	30.61	0.76
GQZ6	枸杞子	atropine	45.97	0.19	FL11	茯苓	poricoic acid B	30.52	0.75
GQZ7	枸杞子	24-methylidenelophenol	44.19	0.75	ZX1	泽泻	alisol B	34.47	0.82
GQZ8	枸杞子	daucosterol _{qt}	36.91	0.75	ZX2	泽泻	alisol B 23-acetate	32.52	0.82
GQZ9	枸杞子	glycitein	50.48	0.24	ZX3	泽泻	alisol C	32.70	0.82
GQZ10	枸杞子	24-ethylcholest-22-enol	37.09	0.75	ZX4	泽泻	alisol C monoacetate	33.06	0.83
GQZ11	枸杞子	fucosterol	43.78	0.76	ZX5	泽泻	1-monolinolein	37.18	0.30
GQZ12	枸杞子	lophenol	38.13	0.71	SQ80	黄芪、枸杞子、覆盆子	quercetin	46.43	0.28
GQZ13	枸杞子	4α,24-dimethylcholesta-7,24-dienol	38.91	0.76	SQ81	黄芪、覆盆子	kaempferol	41.88	0.24
GQZ14	枸杞子	dihydrolanosterol	34.23	0.74	SQ82	黄芪、茯苓	hederagenin	36.91	0.75
GQZ15	枸杞子	obtusifolliol	42.55	0.76	SQ83	生地、麦冬、覆盆子	β-sitosterol	33.94	0.70
GQZ16	枸杞子	physcion diglucoside	43.90	0.62	SQ84	枸杞子、覆盆子、泽泻	sitosterol	36.91	0.75
GQZ17	枸杞子	δ-carotene	31.80	0.55	SQ85	麦冬、枸杞子、山药	stigmasterol	43.83	0.76
GQZ18	枸杞子	lantadene A	38.68	0.57	SQ86	生地、枸杞子、山药	campesterol	37.58	0.71
					SQ87	枸杞子、山药	CLR	37.87	0.68

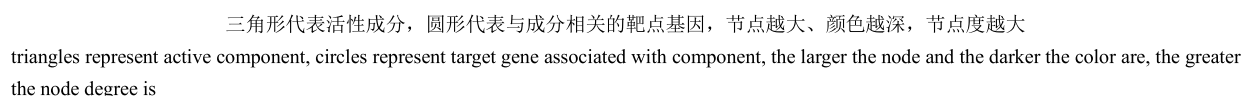


Fig. 3 Network diagram of disease-ingredient-target

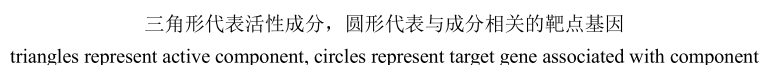


Fig. 4 Core network diagram of medicinal material-disease-ingredient-target

表 2 参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病的关键靶点

Table 2 Key targets of Shenqi Jiangtang Granules in treatment of type 2 diabetes

序号	分类	靶基因	靶点	中文名称	Uniprot ID
1	神经内分泌	AR	androgen receptor	雄激素受体	P10275
2		ESR1	estrogen receptor	雌激素受体	P03372
3		MAPT	microtubule-associated protein tau	微管相关蛋白 tau	P10636
4		CYP19A1	cytochrome P450 19A1	细胞色素 P450 19A1	P11511
5		NR3C1	glucocorticoid receptor	糖皮质激素受体	P04150
6		REN	renin	肾素	P00797
7	胰岛素抵抗	PTPN1	tyrosine-protein phosphatase non-receptor type 1	酪氨酸蛋白磷酸酶非受体 1 型	P18031
8		PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	过氧化物酶体增殖激活受体	P37231
9		HMGCR	3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase	抗 3-羟基 3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶	P04035
10		NR1H2	oxysterols receptor LXR-β	肝 X 受体-β 氧化型胆固醇受体	P55055
11	氧化应激炎症	HIF1A	hypoxia-inducible factor 1α	低氧诱导因子 1α	Q16665
12		BCL2L1	Bcl-2-like protein 1	Bcl-2 家族蛋白 1	Q07817
13		PTGS2	prostaglandin G/H synthase 2	前列腺素 G/H 合成酶 2	P35354
14		STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	信号传导及转录激活因子 3	P40763
15		EGFR	epidermal growth factor receptor	表皮生长因子受体	P00533
16		MAPK8	mitogen-activated protein kinase 8	丝裂原活化蛋白激酶 8	P45983
17		SRC	proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src	原癌基因酪氨酸蛋白激酶	P12931
18		ERBB2	receptor tyrosine-protein kinase erbB-2	受体酪氨酸蛋白激酶表皮生长因子受体	P04626
19		STAT1	signal transducer and activator of transcription 1-α/β	信号传导及转录激活因子 1-α/β	P42224
20		MAPK14	mitogen-activated protein kinase 14	丝裂原活化蛋白激酶 14	Q16539
21	血管增生	VEGFA	vascular endothelial growth factor A	血管内皮生长因子 A	P15692
22		KDR	vascular endothelial growth factor receptor 2	血管内皮生长因子受体 2	P35968
23		FGF2	fibroblast growth factor 2	成纤维细胞生长因子 2	P09038
24		JUN	transcription factor AP-1	转录因子 AP-1	P05412
25		MMP9	matrix metalloproteinase-9	基质金属蛋白酶-9	P14780
26		MMP2	PEX	基质金属蛋白酶 2	P08253
27		MMP1	22 000 interstitial collagenase	22 000 间质胶原酶	P03956
28		MMP3	stromelysin-1	基质溶解素-1	P08254
29		PLG	plasminogen	血纤维蛋白溶酶原	P00747
30		F2	prothrombin	凝血酶原	P00734

的关键成分，对应参芪降糖颗粒中的主要成分，一定程度上从网络层面体现了参芪降糖颗粒的配伍规律。

2.5 网络分析

将 30 个关键靶点导入 Enrichr 数据库，以 $P < 0.05$ 为筛选条件，GO 分析得到 CC 条目 56 个、MF 条目 99 个和 BP 条目 763 个。其中 CC 分析可知靶点基因涉及轴突轴膜（传导神经冲动）、核转录因子复合物（参与免疫细胞活化、淋巴细胞发育）、RNA 聚合酶 II 转录因子复合物、核常染色质、血小板 α 颗粒（参与血小板活化、血栓形成）等；MF 分析可知富集基因主要集中在 MAP 激酶活性、血管内皮生长因子受体结合、磷脂酰肌醇双磷酸激酶活性、

激素受体结合、载脂蛋白受体结合、蛋白磷酸酶结合等功能上；BP 分析可知富集基因主要与血管生成、血管平滑肌细胞增殖、泡沫细胞分化、去乙酰酶活性调控、内皮细胞趋化性调控、干扰素-γ 介导的信号通路以及白细胞介素-21 的细胞反应等密切相关。KEGG 结果分析共富集 105 条信号通路，主要与癌症通路、松弛素信号通路、催乳激素信号通路、IL-17 信号通路、糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路、VEGF 信号通路、流体剪切应力和动脉粥样硬化、线粒体自噬、促性腺激素信号通路、c 型凝集素受体信号通路等信号通路有着密切联系，见图 5。

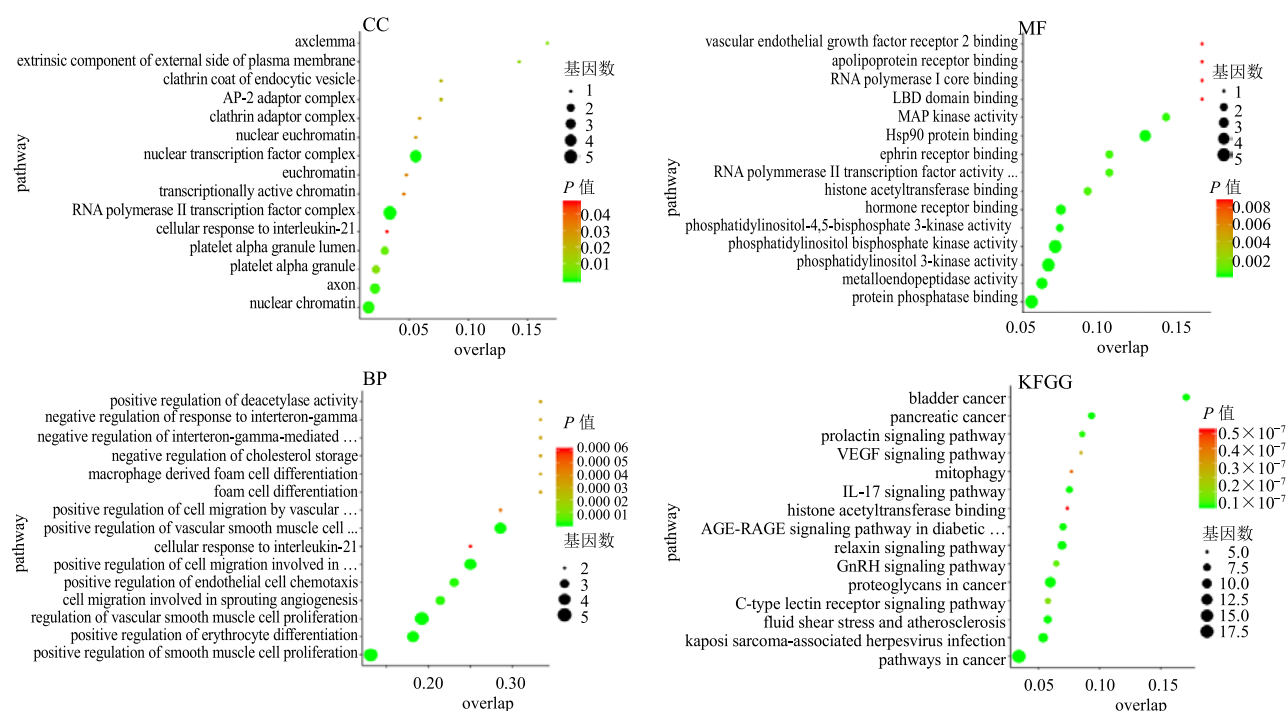


图 5 参芪降糖颗粒活性成分潜在靶标 GO 通路富集分析的 CC、MF、BP 分析和 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 GO pathway enrichment analysis for CC, MF, BP and KEGG pathway enrichment analysis of candidate targets from active ingredients of Shenqi Jiangtang Granules

3 讨论

针对糖代谢、脂代谢异常疾病，郭姣等^[19]基于中医理论综合认识糖脂代谢紊乱性疾病，提出糖脂代谢病创新理论。糖脂代谢病是以糖、脂代谢紊乱为特征，由遗传、环境、精神等多种因素参与的疾病，以神经内分泌失调、胰岛素抵抗、氧化应激、炎症、肠道菌群失调为核心病理，以高血糖、血脂失调、非酒精性脂肪肝、超重、高血压和动脉粥样硬化等单一或合并出现为主要临床表现特点。临床实践表明中医药用于治疗糖脂代谢病有较好的疗效，不良反应低，宜于长期用药，标本兼治。

参芪降糖颗粒广泛应用于 2 型糖尿病及其并发症治疗，不仅可以减弱胰岛素抵抗，增强胰岛素敏感，恢复和保护胰岛 β 细胞功能，而且可以降低三酰甘油，改善糖脂代谢^[20-22]；降低急性时相血清淀粉样蛋白 A (ASAA) 水平，调节细胞因子与炎症因子^[23-24]；降低心率，改善心功能，改善神经传导功能和认知功能等^[25-26]。研究中发现多数基因功能都与糖脂代谢病核心病理密切相关，参芪降糖颗粒可能通过作用于神经内分泌失调、胰岛素抵抗、氧化应激、炎症等相关的蛋白靶标和通路，起到治疗 2 型糖尿病的作用。

3.1 参芪降糖颗粒通过“多成分-多靶点-多通路”治疗 2 型糖尿病

参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病的核心网络如图 4 显示，参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病的核心成分有 43 种，核心靶点有 30 个，表明参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病是通过多成分、多靶点共同作用的结果。

3.2 参芪降糖颗粒可通过调节“神经内分泌”改善糖尿病

本研究中发现，与神经内分泌相关的靶点有 AR、ESR1、MAPT、CYP19A1、NR3C1、REN。AR、ESR1、NR3C1 分别为雄激素受体、雌激素受体 α 和糖皮质激素受体；雌激素对新陈代谢、动态平衡和心血管系统具有保护作用，芳香化酶基因 (CYP19A1) 在雌激素生物合成中起着重要作用，且在脂肪组织的前脂肪细胞中表达^[27]。糖皮质激素可以通过抑制胰岛素信号通路来降低胰岛素的敏感性^[28]；MAPT 在细胞过程的延伸和髓鞘形成中起着至关重要的作用，其改变可导致神经元功能紊乱和中枢神经系统变性^[29]；肾素可在血管紧张素转换酶 (ACE) 的作用下形成血管紧张素 II (Ang II) 而发挥收缩血管和刺激醛固酮分泌的生理效应，且高糖环境会刺激肾素释放而引起糖尿病并发症的发生^[30]。

3.3 参芪降糖颗粒可作用于胰岛素抵抗相关靶点和通路

与胰岛素抵抗相关的靶点有 PTPN1、NR1H2、PPARG、HMGCR。PTPN1 编码蛋白质酪氨酸磷酸酶-1B (PTP1B)，PTP1B 通过对胰岛素受体激酶 (IRK) 或 IRK 活性片段的磷酸化酪氨酸残基去磷酸化作用对胰岛素信号传导进行负调节^[31]。NR1H2 基因可能通过改变胰腺 β 细胞功能影响 2 型糖尿病的发病^[32]。脂代谢紊乱是胰岛素抵抗的最早表现和重要特征，PPARG 属于核受体过氧化物酶体增殖激活受体 (PPAR) 亚家族，PPAR γ 可调节葡萄糖稳态、脂代谢和脂肪细胞功能，胰岛素增敏剂罗格列酮主要的降糖靶标就是 PPAR γ ^[33-34]；胡巢凤等^[35]研究发现人参茎叶皂苷可能通过增加肝组织氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) mRNA 表达而降低血脂水平，抑制脂质过氧化反应。HMGCR 是胆固醇合成的限速酶，HMG-CoA 还原生成甲羟戊酸是整个胆固醇合成过程中的限速步骤，该反应主要由 HMGCR 催化^[36]。

3.4 参芪降糖颗粒可调节氧化应激和炎症靶点

与氧化应激相关的靶点有 HIF1A 和 BCL2L1，缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 是参与细胞缺氧应答基因的关键调节因子^[37]，BCL2L1 属于 Bcl-2 蛋白家族，且已被证实调节外线粒体膜通道 (VDAC) 的开放。VDAC 调节线粒体膜电位，从而控制线粒体活性氧的产生和细胞色素 C 的释放，是细胞凋亡的有力诱导剂^[38]。有研究证明高血糖会损害线粒体代谢，减少葡萄糖引起的 ATP 增加，进而影响胰岛素分泌，进一步升高血糖形成恶性循环^[39]。

与炎症相关的靶点有 PTGS2、STAT1、STAT3、EGFR、MAPK14 等。前列腺素内过氧化物合酶 (PTGS) 又叫环氧合酶 (COX)，PTGS2 为“炎症反应基因”^[40]。STAT1、STAT3 均是 STAT 蛋白家族的成员，通过磷酸化可作用于多种细胞因子和生长因子，包括干扰素、EGF、IL-5、IL-6、HGF 等，从而促进内皮细胞的迁移和血管的形成，有利于血管新生^[41]。丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK14) 是 4 个 p38 MAPKs 之一，由 p38 MAPKs 调节的转录级联会导致 IL- β 和 TNF- α 等促炎细胞因子的产生，并导致与炎症反应相关重要酶的激活^[42]。

3.5 参芪降糖颗粒防治糖尿病可能与其调控血管增生机制有关

除上述研究与糖脂代谢病创新理论密切相关

外，本研究还发现参芪降糖颗粒可影响血管因子起到治疗 2 型糖尿病的作用。MAPK 通路和 VEGF 信号通路相互协调、相互影响。血管内皮生长因子 A (VEGFA) 与其受体 KDR 结合后，激活 MAPK1/8 或 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 等，从而影响 MAPK 信号通路；MAPK 是成纤维细胞生长因子 2 (FGF2) 诱导血管生成的调节因子，FGF2 对内皮细胞有趋化和促进有丝分裂作用，促进血管形成，导致血管增生的发生^[43]。槲皮素能增加 MAPK 的表达促进 MAPK 磷酸化，从而发挥胰岛素抵抗作用^[44]。MMP1、MMP2、MMP3、MMP9 属于基质金属蛋白酶 (MMPs) 家族，可以通过加强动脉粥样硬化 (As) 斑块纤维骨架中胶原降解，影响斑块稳定性^[45]。

本研究通过网络药理学的方法对参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病的主要成分和潜在靶点进行研究，最终发现 43 种关键活性成分，30 个治疗 2 型糖尿病的潜在靶点：MAPT、AR、ESR1、CYP19A1、NR3C1、PTPN1、NR1H2、PPARG、HMGCR、HIF1A、BCL2L1、MAPK14、EGFR、STAT1、STAT3 等，表明参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病是通过多成分、多靶点共同作用结果，中医药对于复杂疾病的治疗具有极大潜在研究价值。

网络药理学系统性思想对中医药的研究符合中医对疾病本质的认识，即多种成分协同作用于多个靶点，调节多种生物过程和功能，进而发挥整体的治疗机制^[46-47]。然而，因数据库中数据不完全，获取的作用靶标不精确等局限性，尚不能完全反映整体状况，且预测出的很多新靶点也有待进一步的实验验证。

参考文献

- [1] Golden S H, Sapir T. Methods for insulin delivery and glucose monitoring in diabetes: Summary of a comparative effectiveness review [J]. *J Manag Care Pharm*, 2012, 18(6 Suppl): S1-S17.
- [2] World Health Organization. *The World Health Report 1998: Life in the 21st Century A Vision for All* [M]. Geneva: World Health Organization, 1998.
- [3] 史雅琼, 马建伟. 2 型糖尿病患者中医证型分布及其并发症证型特点 [J]. *河南中医*, 2017, 37(10): 1789-1791.
- [4] 钟莉, 黎珂. 胰岛素泵与多次皮下注射强化治疗 2 型糖尿病的疗效对比分析 [J]. *西部医学*, 2012, 24(9): 1735-1737.
- [5] 叶婷婷. 参芪降糖颗粒联合常规疗法治疗 2 型糖尿病气阴两虚证疗效观察 [J]. *新中医*, 2016, 48(4): 76-78.

- [6] 吴钉红. 网络药理学及其在中药领域的研究概述 [J]. 广州化工, 2017, 45(11): 216-218.
- [7] Ru J, Li P, Wang J, *et al.* TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *Cheminform*, 2014, 6(1): 13.
- [8] Xue R, Fang Z O, Zhang M, *et al.* TCMID: Traditional Chinese medicine integrative database for herb molecular mechanism analysis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(Database issue): D1089-D1095.
- [9] Li J, Zhao P, Li Y, *et al.* Systems pharmacology based dissection of mechanisms of Chinese medicinal formula Bufei Yishen as an effective treatment for chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15290.
- [10] Wang Y, Cheng T, Bryant S H. PubChem BioAssay: A decade's development toward open high-throughput screening data sharing [J]. *SLAS Discov*, 2017, 22(6): 655-666.
- [11] Gfeller D, Michielin O, Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules [J]. *Bioinformatics*, 2013, 29(23): 3073-3079.
- [12] Rebhan M, Chalifa-Caspi V, Prilusky J, *et al.* GeneCards: Integrating information about genes, proteins and diseases [J]. *Trends Genet*, 1997, 13(4): 163.
- [13] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [14] Szklarczyk D, Franceschini A, Wyder S, *et al.* STRINGv10: Protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life [J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(Database issue): D447-D452.
- [15] Kuleshov M V, Jones M R, Rouillard A D, *et al.* Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(W1): W90-W97.
- [16] 朱宝琛, 张菀桐, 陆 洋, 等. 中药治疗心房颤研究进展及人参皂苷治疗心房颤的生物分子网络分析 [J]. 中草药, 2018, 49(12): 2769-2774.
- [17] 王和宇, 徐芳菲, 王国明, 等. 人参茎叶中提取分离人参皂苷 F2、Rg1、Rb1、Rb2、Rb3 单体化合物的方法 [J]. 人参研究, 2018, 30(1): 12-14.
- [18] 陈晓雷, 杨秀丽, 王俊平, 等. 拟人参皂苷 F11 对甲基苯丙胺依赖大鼠的血清及脑组织中氧化物的影响 [J]. 华西药理学杂志, 2016, 31(2): 152-153.
- [19] 郭 姣, 肖 雪, 荣向路, 等. 糖脂代谢病与精准医学 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2017, 19(1): 50-54.
- [20] 赵能江, 杨叔禹, 李 博, 等. 参芪降糖颗粒治疗 2 型糖尿病临床应用专家共识 [J]. 中草药, 2020, 51(17): 4383-4387.
- [21] 狄 灵, 厉英倩, 张 薇. 参芪降糖颗粒对实验性糖尿病大鼠胰岛 β 细胞、C 肽及血浆胰岛素释放的影响 [J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(19): 1774-1776.
- [22] 高 慧, 于 露. 参芪降糖颗粒对 2 型糖尿病模型大鼠血糖血脂的改善作用及其量效关系研究 [J]. 中国药房, 2016, 27(13): 1801-1803.
- [23] 宋长虹. 利拉鲁肽联合参芪降糖颗粒对 2 型糖尿病肥胖患者血清糖化血红蛋白、急性时相血清淀粉样蛋白 A 水平变化及体重指数的影响 [J]. 中国药物经济学, 2018, 13(4): 86-88.
- [24] 刘艳菊. 二肽基肽酶-4 抑制剂联合参芪降糖颗粒对 2 型糖尿病患者 FPG、2h PG 水平变化的影响 [J]. 北方药学, 2018, 15(10): 119-120.
- [25] 苗明三, 孙丽敏, 王力男. 大鼠糖尿病合并脑缺血再灌注损伤模型的建立 [A] // 亚洲实验动物学会联合会 (AFLAS) 第三次会议暨中国实验动物学会 (CALAS) 第八届学术年会论文集 [C]. 北京: 中国实验动物学会, 2008.
- [26] 武俊华, 晏 英. 参芪降糖颗粒对老年 2 型糖尿病患者心率变异性的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(22): 2428-2429.
- [27] 孟雅洁, 付真彦. 芳香化酶基因与心血管相关疾病的研究进展 [J]. 心血管病学进展, 2016, 37(4): 405-408.
- [28] Gragnoli C. Hypothesis of the neuroendocrine cortisol pathway gene role in the comorbidity of depression, type 2 diabetes, and metabolic syndrome [J]. *Appl Clin Genet*, 2014, 7: 43-53.
- [29] LoPresti P. Tau in oligodendrocytes takes neurons in sickness and in health [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 2408.
- [30] Leite, A P O, Aragão D S, Nogueira M D, *et al.* Modulation of renin angiotensin system components by high glucose levels in the culture of collecting duct cells [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(12): 1-10.
- [31] 丁岩军, 彭惠民. 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 与胰岛素抵抗及 2 型糖尿病的关系 [J]. 重庆医科大学学报, 2006, 31(6): 921-924.
- [32] Ketterer C, Müssig K, Machicao F, *et al.* Genetic variation within the NR1H2, gene encoding liver X receptor β associates with insulin secretion in subjects at increased risk for type 2 diabetes [J]. *J Mol Med*, 2011, 89(1): 75-81.
- [33] Han T, Lv Y, Wang S, *et al.* PPAR γ overexpression regulates cholesterol metabolism in human L02 hepatocytes [J]. *J Pharmacol Sci*, 2018, 139(1): 1-8.
- [34] 赵 敏, 杨 丽, 翟所迪. 新作用靶点的抗糖尿病药物临床研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19(3): 199-202.

- [35] 胡巢凤, 陆大祥, 孙丽萍, 等. 人参茎叶皂苷对小鼠脂肪肝的作用及机制研究 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(5): 663-667.
- [36] 汤世国, 李 伶, 杨刚毅, 等. 高脂诱导胰岛素抵抗 apoE^{-/-}小鼠 HMGCR、SREBP-2 和 LDLr 基因表达的变化 [J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(4): 292-294.
- [37] Pichu S, Vimalraj S, Sathiyamoorthy J, *et al.* Association of hypoxia inducible factor-1 alpha exon 12 mutation in diabetic patients with and without diabetic foot ulcer [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 119: 833-837.
- [38] Wu L, Mao C, Ming X. Modulation of Bcl-x alternative splicing induces apoptosis of human hepatic stellate cells [J]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 7478650.
- [39] Haythorne E, Rohm M, van de Bunt M, *et al.* Diabetes causes marked inhibition of mitochondrial metabolism in pancreatic β -cells [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2474.
- [40] Joshi T, Sharma P, Joshi T, *et al.* In silico screening of anti-inflammatory compounds from lichen by targeting cyclooxygenase-2 [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2020, 38(12): 3544-3562.
- [41] 李玉梅, 鲍慧玮, 王楚盈, 等. 黄芪甲苷与阿魏酸合用调控 JAK-STAT 通路促进血管内皮细胞增殖作用的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 1-8.
- [42] Kim D K, Lim J H, Lee J A, *et al.* Synthesis and biological evaluation of trisubstituted imidazole derivatives as inhibitors of p38mitogen-activated protein kinase [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(14): 4006-4010.
- [43] 宋勇丽, 王政霖, 邢 玮, 等. 基于网络药理学的复方血栓通治疗糖尿病视网膜病的药理机制研究 [J]. 药学报, 2018, 53(9): 1442-1448.
- [44] 葛 凌, 蔡亚军, 王章达. 槲皮素对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的改善作用及 FGF21/MAPK 信号通路的影响 [J]. 中国药师, 2019, 22(3): 418-421.
- [45] 杨粉娣, 郭 姣. 基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化斑块稳定性的关系研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2011, 27(21): 3981-3983.
- [46] 宗 阳, 陈 婷, 董宏利, 等. 基于网络药理学四逆散治疗抑郁症的作用机制探讨 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4995-5002.
- [47] 丁 腾, 孙宇宏, 杜 霞, 等. 经典名方百合地黄汤的化学成分与网络药理学研究 [J]. 中草药, 2019, 50(8): 1848-1856.