

基于网络药理学预测人参皂苷 F2 减肥作用的靶标及通路

周静^{1,2}, 何洋^{1,2}, 胡卫成², 张迹², 杨晓君¹

(1. 新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

(2. 淮阴师范学院江苏省区域现代农业与环境保护协同创新中心, 江苏淮安 223300)

摘要: 人参皂苷 F2 具有抗癌、护肝、抗炎、降脂等多种生理功能, 但是其关于减肥的作用机制尚不明确。本研究利用网络药理学方法预测人参皂苷 F2 减肥作用的潜在靶点和作用通路, 借助 PubChem、GeneCards 数据库收集人参皂苷 F2、肥胖靶点信息, 通过共享靶点, 利用 Cytoscape 等平台构建并分析人参皂苷 F2-靶点-肥胖网络。结果表明, 人参皂苷 F2 减肥作用共涉及 35 个潜在靶点, 其中关键靶点包括 MAPK1、VEGFA、CASP3 等, GO 富集提示潜在靶点主要参与代谢、结合、组成细胞组分等生物学过程, 通过 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂信号通路、PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路等方式发挥减肥作用。网络药理学成功预测了人参皂苷 F2 减肥作用的多靶点、多通路模式, 为后续深入探讨其作用机制提供理论依据和研究方向。

关键词: 人参皂苷 F2; 肥胖; 网络药理学; 靶点; 信号通路

文章编号: 1673-9078(2021)01-24-30

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.01.0678

Prediction the Targets and Pathways for Anti-obesity of Ginsenoside F2 by Network Pharmacology

ZHOU Jing^{1,2}, HE Yang^{1,2}, HU Wei-cheng², ZHANG Ji², YANG Xiao-jun¹

(1.College of Food Science and Pharmacology, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

(2.Jiangsu Collaborative Innovation Center of Regional Modern Agriculture & Environmental Protection, Huaiyin Normal University, Huai'an 223300, China)

Abstract: Ginsenoside F2 has various physiological functions, such as anti-cancer, liver protection, anti-inflammatory, and lipid-lowering. However, its mechanism of improving obesity is still unclear. Hence, the potential targets and mechanisms of ginsenoside F2 action for anti-obesity were analyzed by network pharmacology in this study. Targets information of ginsenoside F2 and obesity was collected from PubChem and GeneCards databases. After sharing targets, the G-F2-targets-obesity network was constructed and analyzed by means of CytoScape and other platform. The anti-obesity of ginsenoside F2 was related to a total of 35 potential targets, of which included MAPK1, VEGFA, CASP3, etc. GO enrichment suggested that potential targets were mainly involved in metabolism process, binding and cellular component formation. Moreover, it may play an anti-obesity effect through EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance, PI3K-Akt signaling pathway and neuroactive ligand-receptor interaction pathway. Network pharmacology successfully predicted the multi-targets and multi-pathways of ginsenoside F2, and it may provide a theoretical basis for further exploration of anti-obesity of ginsenoside F2.

Key words: ginsenoside F2; anti-obesity; network pharmacology; targets; signal pathway

引文格式:

周静,何洋,胡卫成,等.基于网络药理学预测人参皂苷 F2 减肥作用的靶标及通路[J].现代食品科技,2021,37(1): 24-30

ZHOU Jing, HE Yang, HU Wei-cheng, et al. Prediction the targets and pathways for anti-obesity of ginsenoside F2 by network pharmacology [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(1): 24-30

收稿日期: 2020-07-20

基金项目: 新疆农业大学研究生科研创新项目 (XJAUGR12020018)

作者简介: 周静 (1992-), 女, 硕士生, 研究方向: 天然产物功能性评价

通讯作者: 张迹 (1982-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养学; 杨

晓君 (1971-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物功能性评价

据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 数据, 截止到 2016 年, 全世界 18 岁及以上的成年人中有 39% 的人群超重, 其中 13% 为肥胖。肥胖可能增加罹患各种疾病的风险, 如 II 型糖尿病、高血压、脂肪肝、冠状动脉粥样硬化性心脏病等^[1], 由肥

胖引起的抑郁、自卑等心理问题也十分常见。肥胖主要源于遗传性、代谢失常、饮食结构失衡、缺乏体力活动等因素，基因水平上涉及多种调控通路，因此，开发多靶点化合物改善类似代谢疾病的研究受到广泛关注^[2,3]。

人参 (*Panax ginseng*) 具有广泛的生理活性，如抗肥胖^[4]、抑制肿瘤细胞生长^[5]、调节机体免疫力^[6]等，是一种重要的保健食品资源。人参皂苷是人参的主要功效成分，按结构主要分为原人参二醇型 (protopanaxadiol, PPD) 和原人参三醇型 (protopanaxatriol, PPT)。人参皂苷 F2 (20(S)-ginsenoside F2, G-F2) 是由 PPD 型人参皂苷通过生物转化等方式水解多种糖苷键得到的，可以减轻氧化应激引起的细胞凋亡^[7]，对胶质母细胞瘤^[8]、乳腺癌^[9]等有抗癌作用。有报道称 G-F2 可缓解胰岛素抵抗、保护肝免受非酒精性肝损伤，抑制肝内中性脂肪形成、堆积以及炎症^[10]。笔者前期研究发现 G-F2 可以降低 3T3-L1 前脂肪细胞脂滴产生数量，通过文献遍历，发现 Fayeza Md. Siraj 等^[11]报道了 G-F2 可以抑制 3T3-L1 前脂肪细胞的分化而可能具有减肥的效果，但是其作用机制尚不明确。

随着系统生物学、网络生物学、多向药理学等新兴交叉学科的发展，网络药理学 (Network pharmacology, NP) 已经成为未来功能成分开发的重要依据，它从整体性和系统性强调多成分、多靶点、多疾病之间的相互作用，提高效率，同时可以降低开发成本，也适用于天然产物研究与开发^[12-14]。目前，NP 已经发展出一系列成熟的数据平台、方法和软件，如可对中药成分进行筛选、获取成分-靶点-疾病关系的中药系统药理数据库与分析平台 (TCMSP)；集成了包括基因组、转录组、蛋白质组、遗传、临床和功能信息等资源的 GeneCards；可以预测药物与蛋白质之间相互作用的 STITCH 数据库；用于分子互作网络及生物途径可视化的软件平台 Cytoscape 等^[15]。

本研究采用网络药理学方法，利用公共数据库和已发表数据对 G-F2 和肥胖的靶点进行预测和筛选，采用 Cytoscape 软件构建 G-F2-靶点-疾病作用网络，对相关靶点参与的生物学过程、分子功能以及涉及的通路进行分析，以深入探讨 G-F2 减肥的潜在作用机制，为后续研究提供参考方向。

1 资料与方法

1.1 G-F2 靶点预测

在有机小分子生物活性数据库 (PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 检索 20(S)-ginsenoside F2 结构信息，再将获得的结构信息在小分子-蛋白靶点数据库 (Swiss Target Prediction, <http://www.swisstargetprediction.ch/>) 中检索，获得 G-F2 的靶点信息。

1.2 肥胖相关靶点预测

在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 以 obesity 为检索词查找肥胖相关靶点信息，选取相关分数 Relevance score ≥ 5 作为分析靶点。将 G-F2 与肥胖相关靶点信息进行比对并取交集，即为 G-F2 治疗肥胖潜在作用靶点。

1.3 靶点 GO 富集及 KEGG 通路注释分析

将 G-F2-肥胖相关靶点信息导入 OmicShare 平台 (<https://www.omicshare.com/>) GO 富集和 Pathway 富集分析工具，制作 GO 富集柱状图、KEGG 注释图，并选取 Q-value 前 20 的富集通路制作 KEGG 气泡图和通路-靶点网络图。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建

将 G-F2-肥胖相关靶点信息导入 String 数据库 (<https://string-db.org/>)，选择 Multiple Proteins 选项，Organism 选择为 Homo Sapiens，再将获得的文件信息导入 Cytoscape version 3.7.0 软件 (Cytoscape Consortium, California, USA)，绘制相互作用网络并分析，即获得靶点基因对应的蛋白质互作 (PPI) 关系图。

1.5 数据处理

本研究所有数据均使用 Cytoscape version 3.7.0 软件做图，选取 P -Value <0.01 的数据进行 GO 富集及 KEGG 通路分析。

2 结果与分析

2.1 G-F2 抗肥胖作用靶点筛选

G-F2 化学结构见图 3 (a)。Swiss Target Prediction 数据库共获得 100 个 G-F2 相关靶点信息，GeneCards 数据库检索共获得 1367 个肥胖相关靶点 (Relevance score ≥ 5)，将 G-F2 靶点信息与肥胖靶点信息进行比对，并取交集，共获得 35 个 G-F2 与肥胖相关靶点，见表 1。

表 1 G-F2 减肥靶点

Table 1 Anti-obesity targets of G-F2

NO.	Protein name	Gene symbol	Uniprot ID
1	Signal transducer and activator of transcription 3	<i>STAT3</i>	P40763
2	Interleukin-2	<i>IL2</i>	P60568
3	Heat shock protein HSP 90-alpha	<i>HSP90AA1</i>	P07900
4	Vascular endothelial growth factor A	<i>VEGFA</i>	P15692
5	Basic fibroblast growth factor	<i>FGF2</i>	P09038
6	Nuclear receptor ROR-gamma	<i>RORC</i>	P51449
7	Galectin-4	<i>LGALS4</i>	P56470
8	Hepatocyte growth factor receptor	<i>MET</i>	P08581
9	11-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2	<i>HSD11B2</i>	P80365
10	Glucocorticoid receptor	<i>NR3C1</i>	P04150
11	Sodium/glucose cotransporter 1	<i>SLC5A1</i>	P13866
12	Plasminogen (by homology)	<i>PLG</i>	P00747
13	Adrenergic receptor beta	<i>ADRB2</i>	P07550
14	Adenosine A1 receptor	<i>ADORA1</i>	P30542
15	Serotonin 2b (5-HT2b) receptor	<i>HTR2B</i>	P41595
16	Alpha-2a adrenergic receptor	<i>ADRA2A</i>	P08913
17	Alpha-2b adrenergic receptor	<i>ADRA2B</i>	P18089
18	Serotonin 2a (5-HT2a) receptor	<i>HTR2A</i>	P28223
19	Coagulation factor IX	<i>F9</i>	P00740
20	Toll-like receptor (TLR7/TLR9)	<i>TLR9</i>	Q9NR96
21	Serine/threonine-protein kinase mTOR	<i>MTOR</i>	P42345
22	PI3-kinase p110-gamma subunit	<i>PIK3CG</i>	P48736
23	PI3-kinase p110-alpha subunit	<i>PIK3CA</i>	P42336
24	Renin	<i>REN</i>	P00797
25	Coagulation factor VII	<i>F7</i>	P08709
26	Thrombin	<i>F2</i>	P00734
27	Vitamin D receptor	<i>VDR</i>	P11473
28	Aldehyde dehydrogenase	<i>ALDH2</i>	P05091
29	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma	<i>PPARG</i>	P37231
30	MAP kinase ERK2	<i>MAPK1</i>	P28482
31	Protein-tyrosine phosphatase 1B	<i>PTPNI</i>	P18031
32	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 1	<i>HSD17B1</i>	P14061
33	Caspase-3	<i>CASP3</i>	P42574
34	Caspase-8	<i>CASP8</i>	Q14790
35	Ribosomal protein S6 kinase 1	<i>RPS6KB1</i>	P23443

2.2 G-F2 抗肥胖潜在靶点 GO 富集分析

使用 OmicShare 平台对 G-F2-肥胖靶点进行 GO 富集分析。GO 富集分析分别描述了靶点基因参与的生物过程 (Biological Process)、分子功能 (Molecular Function)、细胞组分 (Cellular Component)。结果如图 1 所示。

由图 1 知, G-F2 减肥作用的预测靶点参与多个生物过程, 其中生物学过程主要包括代谢过程 (metabolic process)、对刺激反应 (response to stimulus)、生物调节 (biological regulation)、细胞进程 (cellular process)、多细胞组织过程 (multicellular organism process) 等; 分子功能主要富集于结合 (binding)、催化活性 (catalytic activity)、分子转导活性 (molecular

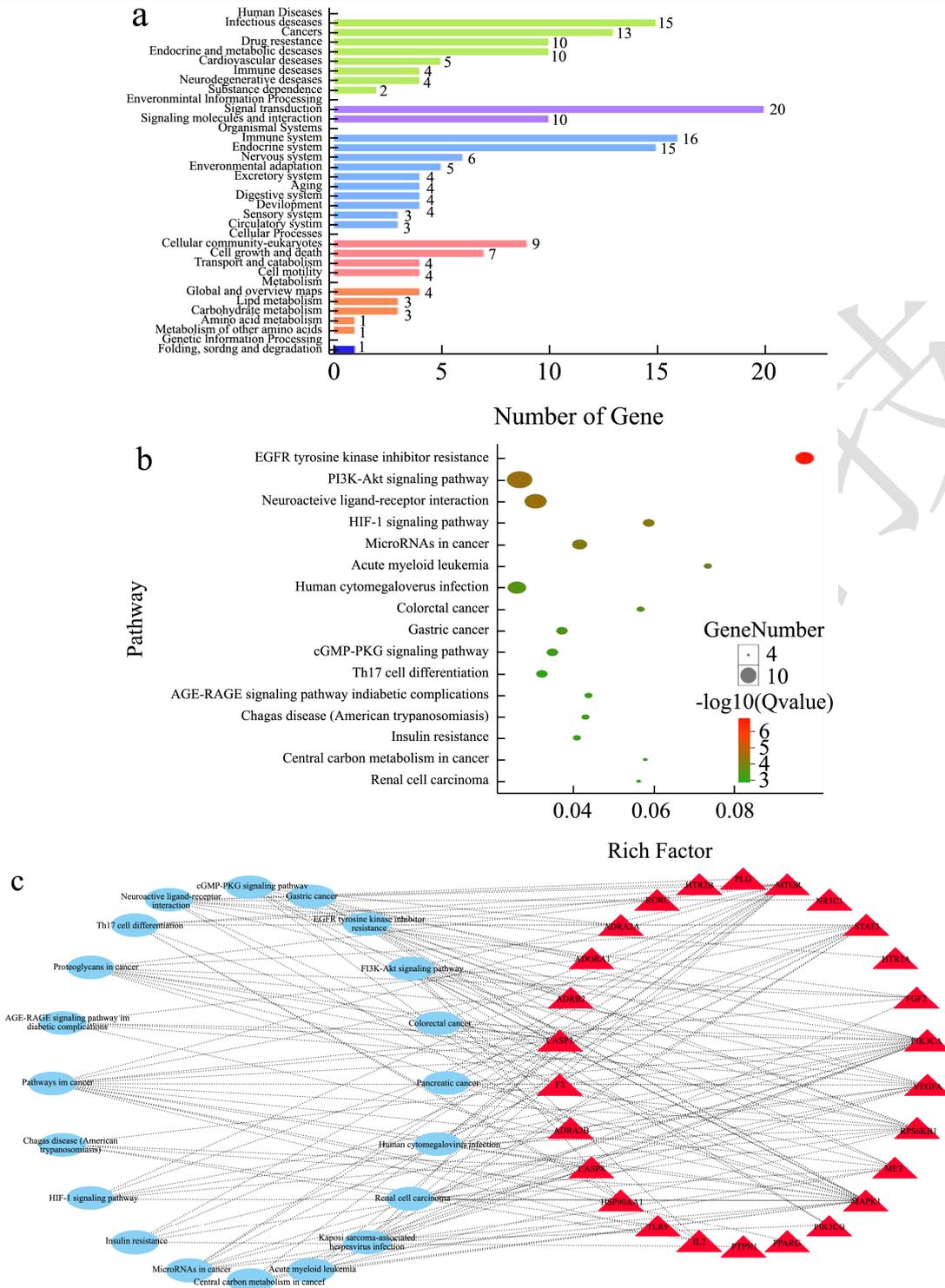


图2 G-F2 减肥潜在靶点 KEGG 通路富集分析

Fig. 2 KEGG pathway enrichment analysis in potential anti-obesity targets of G-F2

注: a: 通路注释直方图; b: 前 20 通路富集气泡图; c: 通路-靶点网络图。

2.4 G-F2-靶点-肥胖蛋白互作 (PPI) 网络模型分析

PPI 网络图显示了靶点间直接或间接调控作用, 可以更好的理解复杂代谢性疾病 (如肥胖) 中不同靶

点的功能^[22,23]。图 3b 中, 节点 (node) 表示 G-F2-肥胖相关靶点蛋白, 其大小、颜色表示作用强度 (degree), 由橙至蓝, degree 依次增大; 节点之间的边 (edge) 表示靶点蛋白之间作用关系。靶点筛选共得到 35 个 G-F2-肥胖相关靶点, 而在图中显示 32 个节点, 缺失的 3 个靶点蛋白为 SLC5A1、ALDH2、

HSD17B1, 它们与其他靶点蛋白之间无相互作用关系, 故不显示。由图可知, 32 个靶点蛋白共产生 151 条边, 其中 degree 值位于前五的靶点分别是 VEGFA (血管内皮生长因子 A)、MAPK1 (丝裂原活化蛋白激酶 1)、CASP3 (半胱天冬蛋白酶 3)、STAT3 (信号转导子和转录激活子 3)、PIK3CA (磷脂酰肌醇 3 激酶), 预示这些靶点可能是 G-F2 治疗肥胖的关键靶点。

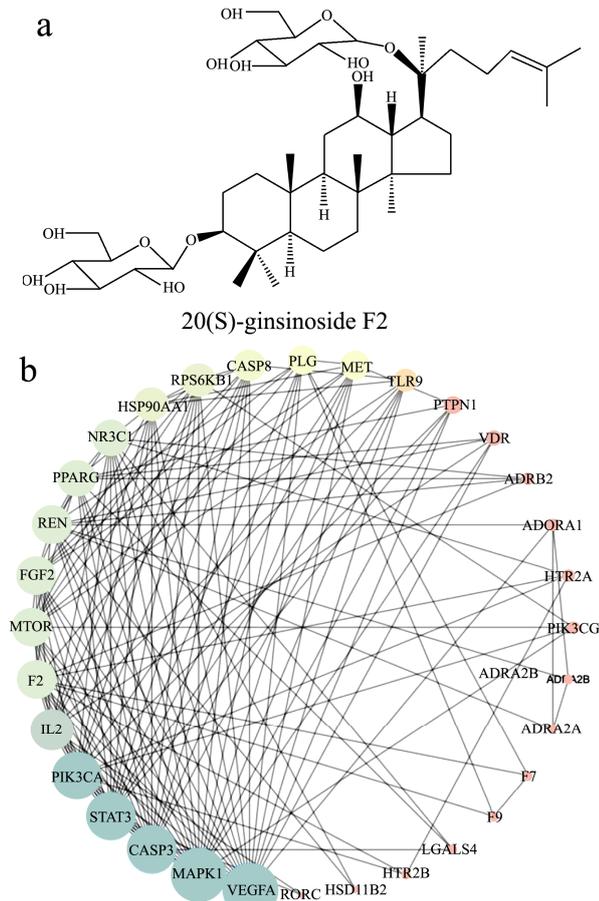


图 3 G-F2 减肥潜在靶点 PPI

Fig. 3 Protein interaction network of ginsenoside F2 in anti-obesity

注: a: G-F2 化学结构; b: PPI。

肥胖在细胞水平表现为脂肪细胞数目增多、体积增大, 其中, 前脂肪细胞过度增殖与分化是引起肥胖的重要原因, 期间受多种激素、基因表达和信号通路的调控^[24,25]。PPAR γ 是脂肪细胞分化的重要转录子, 它可促进脂肪细胞分化、脂肪生成并增加胰岛素敏感性, Fayeza Md. Siraj 等^[11]通过分子对接和体外实验发现 G-F2 与 PPAR γ 具有良好亲和力, G-F2 通过抑制 PPAR γ 表达而阻止脂肪细胞分化, 具有减肥活性, 本研究基于此报道进行了 G-F2 减肥靶点预测, 进一步探讨其可能的分子机制。VEGF 家族可参与血管形成、调节血管通透性、维持血管生理功能, 研究表明其水平与肥胖呈正相关, 而 VEGFA 在脂肪发育和能量代

谢中起重要调节作用^[26], 可能是 G-F2 减肥作用的重要靶点。MAPK 作为预测的另一重要靶点, 是细胞增殖、分化等基本细胞进程中起关键作用的胞内靶点^[27,28], Seo 等^[29]对槲皮素的体内外研究发现, 它可以通过抑制脂肪细胞中 MAPK 信号因子 ERK1/2、JNK、p38 的表达而对肥胖及肥胖引起的炎症具有抑制作用。

3 结论

本研究通过网络药理学结合文献预测了 G-F2 减肥的作用机制, 建立了 G-F2-靶点-肥胖作用网络, 共涉及 35 个潜在靶点, 其中关键靶点包括 VEGFA、MAPK1、CASP3 等, 主要参与代谢、结合、组成细胞组分等生物过程, 可能通过 EGFR 抗酪氨酸激酶抑制剂信号通路、PI3K-Akt 信号通路、神经活性配体-受体相互作用信号通路等方式发挥改善肥胖作用, 表明 G-F2 具有多靶点、多通路的作用特点, 为后续深入探讨 G-F2 改善肥胖作用机制提供方向, 网络药理学研究思路也有助于传统药食资源的再开发利用。

参考文献

- [1] Pi-sunyer F X. The obesity epidemic: Pathophysiology and consequences of obesity [J]. Obesity Research, 2002, 10(S12): 97S-104S
- [2] Li P, Chen J, Wang J, et al. Systems pharmacology strategies for drug discovery and combination with applications to cardiovascular diseases [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2014, 151(1): 93-107
- [3] 孙素霞. 多靶点抗糖尿病先导物的设计、合成和活性研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2010
SUN Su-xia. Design, synthesis and activity studies of multi-target anti-diabetic lead compounds [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2020
- [4] Li Z, Ji Ge. Ginseng and obesity [J]. Journal of Ginseng Research, 2018, 42(1): 1-8
- [5] Park H M, Kim S J, Kim J S, et al. Reactive oxygen species mediated ginsenoside Rg3-and Rh2-induced apoptosis in hepatoma cells through mitochondrial signaling pathways [J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(8): 2736-2741
- [6] Wang Y, Liu Y, Zhang X Y, et al. Ginsenoside Rg1 regulates innate immune responses in macrophages through differentially modulating the NF- κ B and PI3K/Akt/mTOR pathways [J]. International Immunopharmacology, 2014, 23(1): 77-84
- [7] 刘迪, 张浩, 张寒雪, 等. 人参皂苷 F2 干预 Caspase 级联反应

- 抑制 H₂O₂ 诱导的细胞凋亡[J].现代食品科技,2020,36(7): 11-16
- LIU Di, ZHANG Hao, ZHANG Han-xue, et al. Ginsenoside F2 interferes with the cascade reactions of caspase to inhibit H₂O₂-induced apoptosis [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(7):11-16
- [8] Shin J Y, Lee J M, Shin H S, et al. Anti-cancer effect of ginsenoside F2 against glioblastoma multiforme in xenograft model in SD rats [J]. Journal of Ginseng Research, 2012, 36(1): 86
- [9] Mai T T, Moon J Y, Song Y W, et al. Ginsenoside F2 induces apoptosis accompanied by protective autophagy in breast cancer stem cells [J]. Cancer Letters, 2012, 321(2): 144-153
- [10] Jeong W I, Kim S C, Jung J Y, et al. Composition for preventing or treating non-alcoholic liver disease or insulin resistance comprising ginsenoside F2 [P]. Unites States Patent:15/058609.09/08/2016
- [11] Siraj F M, Satthis-kumer N, Kim Y j, et al. Ginsenoside F2 possesses anti-obesity activity via binding with PPAR γ and inhibiting adipocyte differentiation in the 3T3-L1 cell line [J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicine Chemistry, 2015, 30(1): 9-14
- [12] 应剑,张波,王春波,等.基于网络药理学预测我国蜂胶改善代谢性疾病的生物学机制[J].食品科学,2017,11:95-102
- YING Jian, ZHANG Bo, WANG Chun-bo, et al. Systematic analysis of biological mechanisms of propolis in improving metabolic health through a network pharmacological approach [J]. Food Science, 2017, 11: 95-102
- [13] Zhang B, Wang X, Li Y, et al. Matrine is identified as a novel macropinocytosis inducer by a network target approach [J].Frontiers in Pharmacology, 2018, 9: 10
- [14] 梁喜才,姚瓊珈,王玉莹,等.基于网络药理学的人参二醇对阿尔茨海默病细胞保护作用的研究[J].中国药理学通报, 2018,34(9):1275-1282
- LIANG Xi-cai, YAO Ying-jia, WANG Yu-ying, et al. The study of the protective effect of panoxadiol on Alzheimer's disease cells based on network pharmacology [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2018, 34(9): 1275-1282
- [15] 段贤春,黄石,彭代银,等.网络药理学在中药复方研究中的应用[J].中国药理学通报,2020,36(3):303-308
- DUAN Xian-chun, HUANG Shi, PENG Dai-yin, et al. Application of network pharmacology in the study of traditional Chinese medicine formula [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2020, 36(3): 303-308
- [16] Vázquez-Vela M E F, Torres N, Tovar A R. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity [J]. Archives of Medical Research, 2008, 39(8): 715-728
- [17] 徐梦,马青,范春兰,等.STAT3 与线粒体电子传递链[J].生理科学进展,2019,50(5):366-370
- XU Meng, Ma Qing, FAN Chun-lan, et al. STAT3 and the mitochondrial electron transport chain [J]. Progress in Physiological Sciences, 2019, 50(5): 366-370
- [18] Mao Q, Zhang P H, Wang Q, et al. Ginsenoside F(2) induces apoptosis in humor gastric carcinoma cells through reactive oxygen species-mitochondria pathway and modulation of ASK-1/JNK signaling cascade *in vitro* and *in vivo* [J]. Phytomedicine International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology, 2014, 21(4): 515-522
- [19] 熊杏安,王梦,蔡志强.表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂的耐药机制 [J].国际肿瘤学杂志,2014,41(7):515-517
- XIONG Xing-an, WANG Meng, CAI Zhi-qiang. The mechanism research of EGFR-TKI resistance [J]. Journal of International Oncology, 2014, 41(7): 515-517
- [20] Li W, Fang Q, Zhong P, et al. EGFR inhibition blocks palmitic acid-induced inflammation in cardiomyocytes and prevents hyperlipidemia-induced cardiac injury in mice [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 24580
- [21] 王笑,王甄真,陈雁.PI3K/AKT 信号通路在维持血糖平衡中的作用[J].生命科学,2013,25(2):133-139
- WANG Xiao, WANG Zhen-zhen, CHEN Yan. The functions of P13K/AKT signal pathway in glucose homeostasis [J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2013, 25(2): 133-139
- [22] Wang Z Y, Jiang Z M, Xiao P T, et al. The mechanisms of baicalin ameliorate obesity and hyperlipidemia through a network pharmacology approach [J]. European Journal of Pharmacology, 2020, 878: 173103
- [23] 李利亚.连翘苷减肥作用靶标的识别与验证[D].太原:山西大学,2019
- LI Li-ya. Identification and verification of anti-obesity targets about phillyrin [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2019
- [24] Rosen E D, Macdougald O A. Adipocyte differentiation from the inside out [J]. Nature Reviews, Molecular Cell Biology, 2006, 7(12): 885-896
- [25] Poulos S P, Dodson M V, Hausman G J. Cell line models for differentiation: preadipocytes and adipocytes [J]. Experimental Biology and Medicine, 2010, 235(10): 1185-1193