

基于网络药理学与孟德尔随机化探讨姜黄素治疗2型糖尿病的药理学机制

公义宁¹, 邢进¹, 刘亚平², 崔学雷^{3*}

¹济宁医学院临床医学院, 山东 济宁

²济宁市第一人民医院内分泌与代谢科, 山东 济宁

³高青县高城中心卫生院中医科, 山东 淄博

收稿日期: 2024年11月17日; 录用日期: 2024年12月10日; 发布日期: 2024年12月18日

摘要

目的: 通过网络药理学与孟德尔随机化的结合探讨姜黄素治疗2型糖尿病的药理学机制。方法: 姜黄素的药物靶点通过pharmMapper数据库、Swiss Target Prediction数据库获得, 2型糖尿病的疾病靶点通过GeneCards数据库获得, 将药物靶点与疾病靶点进行合并以获得潜在的治疗靶点, 蛋白质之间相互作用(PPI)数据从String数据库中获得, 通过R语言对治疗靶点进行GO与KEGG分析, 通过IEU OPEN GWAS Project数据库获得暴露数据与结局数据的相关信息, 并通过语言进行孟德尔随机化分析。结果: 姜黄素的药物靶点预测到了111个, 2型糖尿病的疾病靶点有921个, 治疗靶点有27个, 对这些治疗靶点KEGG分析发现主要通路为凋亡信号通路、TNF信号通路、IL-17信号通路等, 核心治疗靶点为CASP3、MMP2、SIRT1等。结论: 姜黄素通过多靶点、多通路、多生物学过程对2型糖尿病起到治疗作用, 这与中医学核心观念相一致。

关键词

姜黄素, 2型糖尿病, 网络药理学, 孟德尔随机化

Exploring the Pharmacological Mechanism of Curcumin in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus Based on Network Pharmacology and Mendelian Randomisation

Yining Gong¹, Jin Xing¹, Yaping Liu², Xuelei Cui^{3*}

*通讯作者。

文章引用: 公义宁, 邢进, 刘亚平, 崔学雷. 基于网络药理学与孟德尔随机化探讨姜黄素治疗 2 型糖尿病的药理学机制[J]. 医学诊断, 2024, 14(4): 439-447. DOI: 10.12677/MD.2024.144064

¹Department of Clinical Medicine, Jining Medical College, Jining Shandong

²Department of Endocrinology and Metabolism, The First People's Hospital of Jining, Jining Shandong

³Department of Traditional Chinese Medicine, Gaocheng Central Health Hospital of Gaoqiang County, Zibo Shandong

Received: Nov. 17th, 2024; accepted: Dec. 10th, 2024; published: Dec. 18th, 2024

Abstract

Objective: To explore the pharmacological mechanism of curcumin in the treatment of type 2 diabetes through the combination of network pharmacology and Mendel randomization. **Methods:** The drug targets of curcumin were obtained from pharmapper database and Swiss Target Prediction database, the disease targets of type 2 diabetes were obtained from GeneCards database, the drug targets and disease targets were combined to obtain potential therapeutic targets, the protein-protein interaction (PPI) data was obtained from String database, the treatment targets were analyzed by GO and KEGG through R language, the relevant information of exposure data and outcome data was obtained through IEU OPEN GWAS Project database, and Mendelian randomization analysis was conducted through language. **Results:** 111 drug targets were predicted for curcumin, 921 disease targets for type 2 diabetes, and 27 therapeutic targets. KEGG analysis of these therapeutic targets found that the main pathways were apoptosis signaling pathway, TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, and the core therapeutic targets were CASP3, MMP2, SIRT1, etc. **Conclusion:** Curcumin plays a therapeutic role in type 2 diabetes through multiple targets, multiple pathways and multiple biological processes, which is consistent with the core concept of traditional Chinese medicine.

Keywords

Curcumin, Type 2 Diabetes, Network Pharmacology, Mendel Randomization

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

目前，全世界约有 2.4 亿糖尿病患者，据估计，到 2040 年，这一数字将达到 6.42 亿[1]。糖尿病是导致心脑血管疾病、失明和肾功能衰竭的重要因素，严重危害身体健康和人类的心理健康，它导致大约每年有数百万人死亡。糖尿病主要分为 1 型糖尿病、2 型糖尿病、妊娠糖尿病和特殊类型糖尿病，其中，2 型糖尿病患者的数据所占比重较大。随着生活方式不断改进及生活水平的提高，2 型糖尿病呈指数级增长，由于进食过多精细食物、及久坐不动的城市化的生活方式的消费增加，国际糖尿病联合会调查，到 2040 年代中国 2 型糖尿病患者将超过 1 亿[2]。因此，有必要确定有效的治疗方法来治疗这种难治性疾病。

随着近年来中药的发展，单体活性成分已成为全球研究的热点。中药成分姜黄素是从姜黄根茎中提取的一种生物活性物质，属于酸性多酚类化合物。大量研究表明，姜黄素抑制肿瘤细胞活性，降低迁移侵袭能力，诱导自噬，促进细胞凋亡，具有良好的临床应用价值[3]。姜黄素具有良好的降血糖、抗氧化、抗炎、抗肿瘤、保护肝肾、免疫调节及抗风湿等生物活性。在糖尿病的治疗中，姜黄素及其类似物通过

过氧化物酶体增殖激活受体- γ ，其作用机制与降糖药物噻唑烷二酮类似[4]。姜黄素对肿瘤细胞发生诱导凋亡、抑制生长、抑制转化与侵袭、抑制血管的形成、调节基因表达、对化学药物的增敏和逆转耐药性等功能，用于多种肿瘤疾病的治疗。近年来姜黄素的潜在降糖效应吸引了更多的关注[5]。

中医药治疗疾病具有多靶点、多途径的作用机制。因此，有必要利用大数据挖掘与姜黄素和糖尿病相关的所有现有靶点和途径。网络药理学是一种将生物信息学和药理学相结合的方法。通过数据集成和计算分析，可以系统地阐明药物与疾病的关系，探索药物作用机制。本研究通过网络药理学和孟德尔随机化分析，筛选和预测了姜黄素治疗糖尿病的潜在靶点和信号通路，为后续药物开发和临床应用提供了科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 姜黄素靶点

通过 Pubchem 数据库获得姜黄素的分子结构，通过 PharmMapper 数据库、Swiss Target Prediction 数据库预测其作用靶点，通过 Cytoscape 软件构建“化合物 - 靶点”网络。

2.2. 2 型糖尿病疾病靶点

通过 GeneCard 数据库查询，获得 2 型糖尿病的疾病靶点，相关评分设置为大于 10，并通过 uniprot 数据库对基因名称进行标准化处理。

2.3. PPI 网络分析

将姜黄素药物靶点、2 型糖尿病疾病靶点这两个数据集取交集，重叠基因即为姜黄素治疗 2 型糖尿病的潜在靶点。将治疗靶点输入至 STRING 数据库以获得 PPI 关系，保存为 TSV 格式后下载，通过 Cytoscape 软件进行可视化展示。通过 Cytohubba 插件中的七种算法(Degree, Closeness, Radiality, EPC, MCC, MNC, Stress)筛选核心治疗靶点。

2.4. GO 和 KEGG 分析

通过 R 包对治疗靶点进行 GO、KEGG 富集分析，以探讨姜黄素治疗 2 型糖尿病的潜在生物学过程及信号通路，并通过 Cytoscape 软件建立“活性成分 - 靶点 - 信号通路 - 疾病”网络。

2.5. 孟德尔随机化分析

通过 IEU OPEN GWAS Project 数据库获得暴露数据与结局数据的相关信息。MR 分析要求满足 3 个基本假设：1) IV 与暴露因素之间密切相关；2) IV 仅通过暴露因素作用于性状或疾病，即不存在多效性；3) IV 与混杂因素相互独立。

筛选 IV：1) 设置 P 值($p < 5 \times 10^{-8}$)和连锁不平衡参数($r^2 > 0.001$)，遗传距离为 500 kb)筛选 SNPs，避免弱工具偏倚和保证各 IV 之间相互独立。2) 分别利用 Cochran's Q、MR-Egger、LEAVE-ONE-OUT 检验 IV 的异质性、基因多效性和敏感性，剔除混杂 IV。

3. 结果

3.1. 药物靶点预测

通过 Pubchem 数据库获得姜黄素潜在的作用靶点 111 个，将其输入至 Cytoscape 软件中进行可视化展示(图 1)。

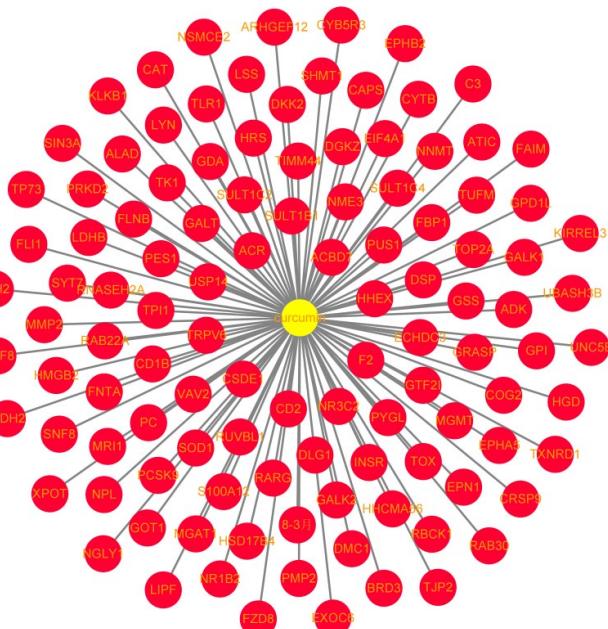


Figure 1. Drug target network of curcumin
图 1. 姜黄素的药物靶点网络

3.2. 疾病靶点预测

2型糖尿病为关键词，在GeneCards数据库中搜索到与2型糖尿病相关的靶点921个，这些靶点均满足过滤条件(相关分数大于10)。

3.3. PPI 网络分析

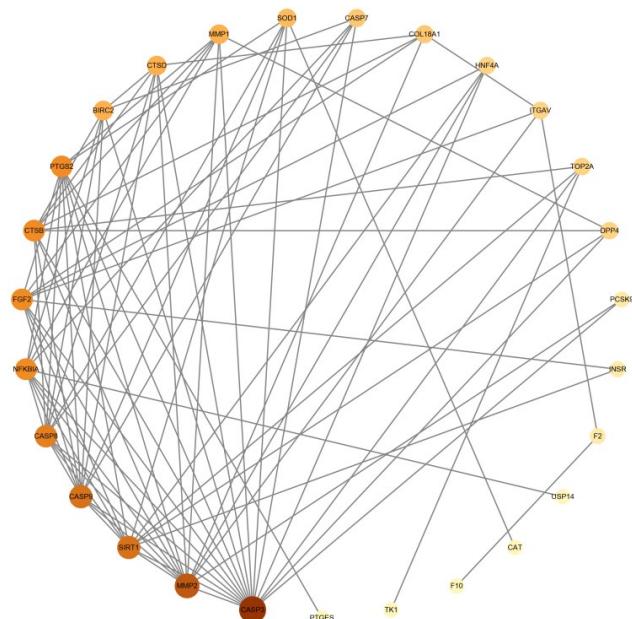


Figure 2. PPI network for therapeutic targets
图 2. 治疗靶点的 PPI 网络

通过对药物靶点与疾病靶点进行取交集活得姜黄素治疗 2 型糖尿病的治疗靶点 27 个, 通过 STRING 数据库获得这些靶点之间的相互作用关系, 并通过 Cytoscape 软件进行可视化展示(图 2)。通过 Cytohubba 获得核心治疗靶点, 并以条形图进行可视化展示(图 3)。

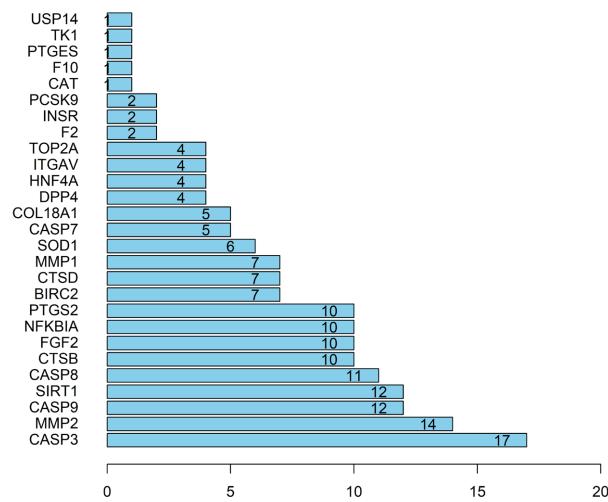


Figure 3. Ranking of degree values for therapeutic targets
图 3. 治疗靶点的度值排序

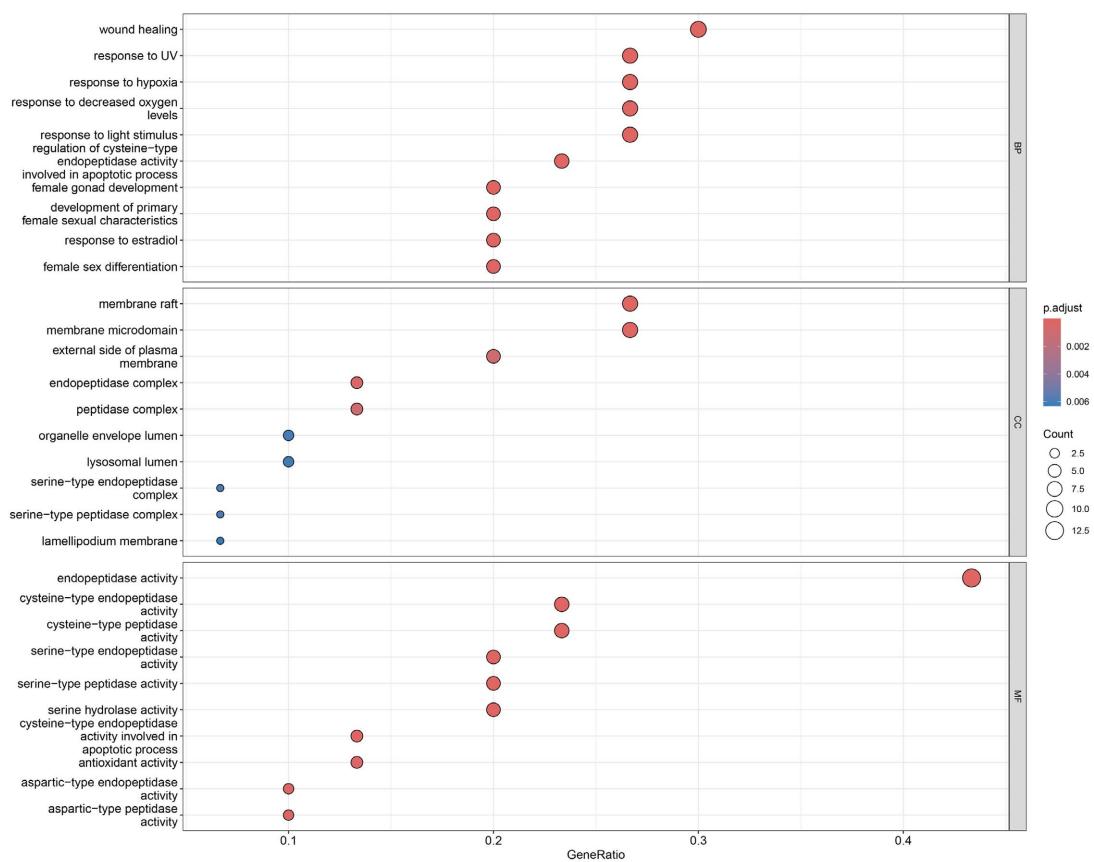


Figure 4. GO analysis of therapeutic targets
图 4. 治疗靶点的 GO 分析

3.4. GO 与 KEGG 分析

通过 R 包对治疗靶点进行 GO、KEGG 富集分析，以探讨姜黄素治疗 2 型糖尿病的潜在生物学过程及信号通路，结果进行可视化展示，可见姜黄素治疗 2 型糖尿病是多生物学过程、多信号通路的，这符合中医整体治疗观(图 4、图 5)。

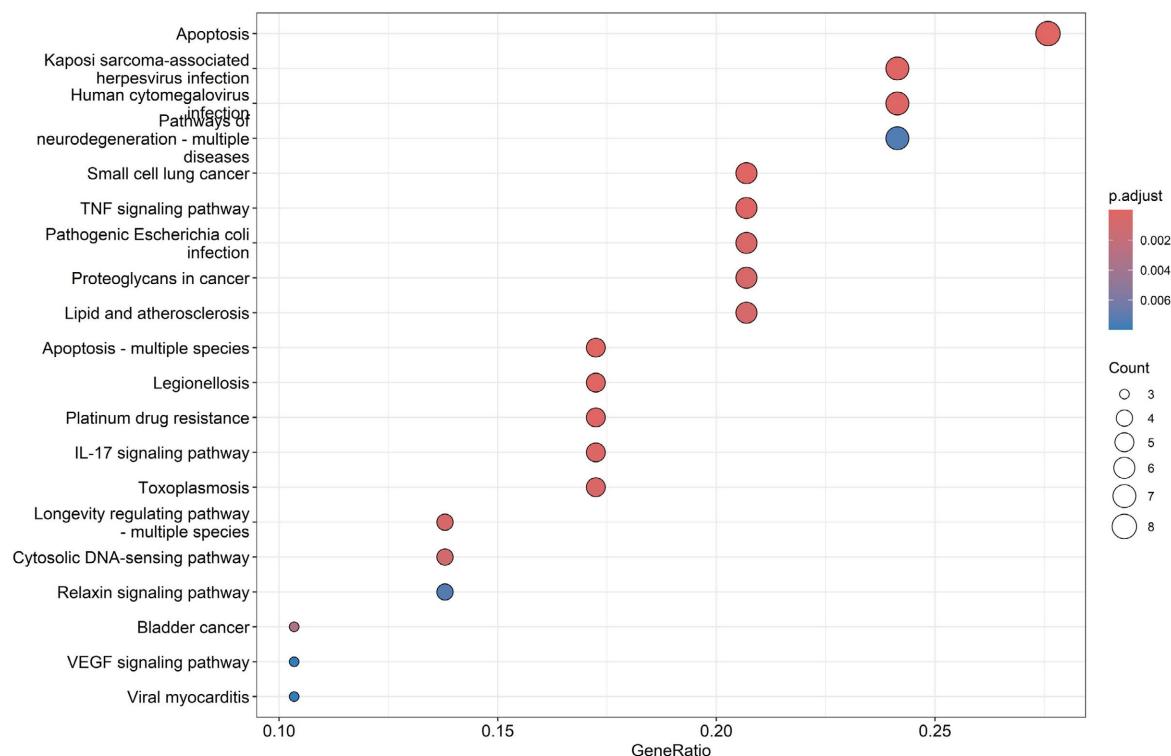


Figure 5. KEGG analysis of therapeutic targets
图 5. 治疗靶点的 KEGG 分析

3.5. 孟德尔随机化结果

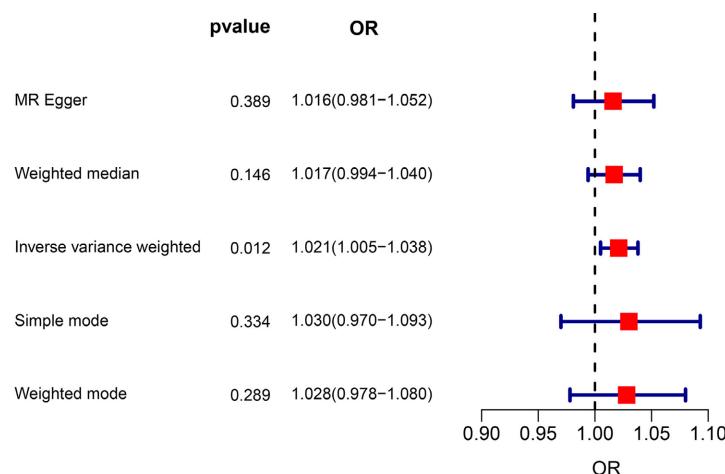


Figure 6. Mendelian five methods evaluation
图 6. 孟德尔五种方法评估

通过 IVW 方法可以看出 p 值小于 0.05，这说明核心治疗靶点 CASP3 与 2 型糖尿病存在潜在因果关系(图 6)，另外，漏斗图、留一法分析等揭示了预测敏感性良好(图 7)。

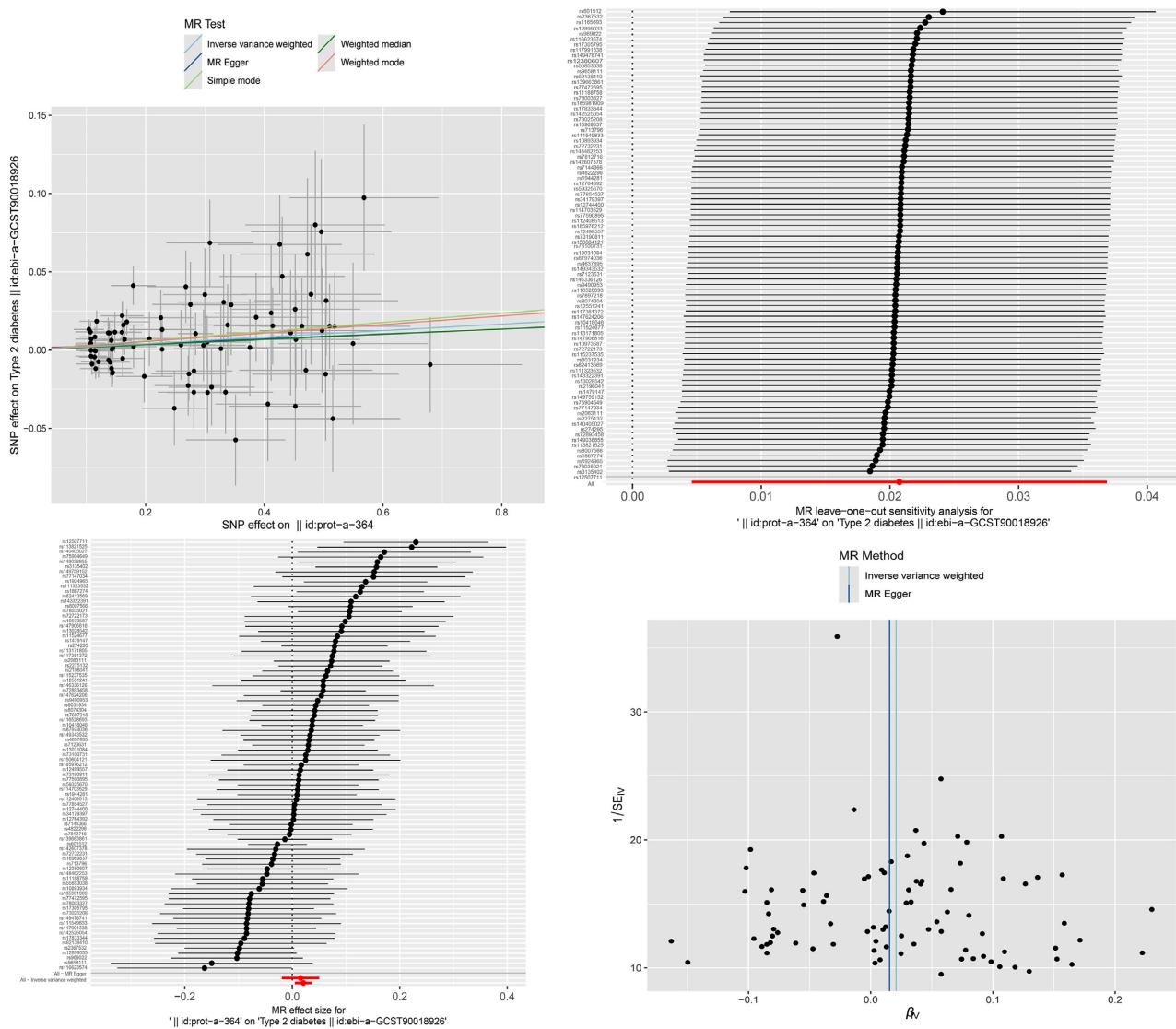


Figure 7. Mendelian randomization sensitivity assessment

图 7. 孟德尔随机化敏感性评估

4. 讨论

姜黄植物，常作为香料用于食品制备中(也存在于咖喱粉中)，在科学界被公认为姜黄。这种植物的特点是桔黄色块茎状根状茎，在东南亚被广泛种植，在那里它被用作天然药物，自古以来治疗各种病理状况的药物[6]。姜黄素作为一种营养品的独特特征如下：其抗氧化和抗炎活性及药理安全性。此外，由于其多种作用：抗菌、抗糖尿病、抗病毒和抗癌活性，姜黄素在预防和治疗多种疾病方面具有潜在作用[7]。本文通过网络药理学与孟德尔随机化相结合，探讨了其用于 2 型糖尿病的潜在药理机制。

通过网络药理学分析可以看出姜黄素治疗 2 型糖尿病主要涉及凋亡、TNF 信号通路及 IL-17 信号通路。白细胞介素 17 (IL-17) 家族是由 IL-17A-F 组成的细胞因子亚群，在急性和慢性炎症反应中发挥关键

作用[8]。研究表明，当 IL17 信号通路表达受到抑制时，结直肠肿瘤的数量减少，癌细胞的增殖能力降低。细胞周期调控与细胞凋亡密不可分。当细胞周期耗尽或 DNA 损伤严重时，可能发生细胞周期停滞。周期停滞是不可逆的，细胞凋亡发生。研究表明，通过提高细胞周期抑制蛋白的表达和降低细胞周期的表达，可以在人 CC 细胞中诱导细胞周期停滞[9]。最近，越来越多的证据表明，炎症是葡萄糖稳态的关键调节因子，而葡萄糖稳态与代谢紊乱密切相关[10]。IL 家族中各种细胞因子之间的复杂相互作用调节许多疾病。作为 IL-17 家族的一员，IL-17A 通过其无处不在的受体作用于多种细胞，这些受体具有许多功能，包括介导中性粒细胞的募集和迁移[11]。IL-17A 在许多疾病过程中起着关键作用，包括高血压、扩张型心肌病、银屑病。Riyaz 等人发现低剂量 IL-17A 给药是糖尿病肾病的一种有前景的治疗方法[12]。在我们的研究结果中，我们发现 IL-17 信号通路被明显富集，这表明 IL-17 通路可能与姜黄素的治疗效果相关。有报道指出，姜黄素可以抑制高脂饮食诱导的 I κ B 和 p65 磷酸化水平的升高，这表明姜黄素可能调节 NF- κ B 的功能亚基以控制 NF- κ B 途径[13]。需要进一步的研究来评估姜黄素是否通过直接阻断 IL-17/NF- κ B 通路来减轻炎症。本研究的结果为我们的进一步研究提供了一个很好的思路。

凋亡途径涉及两个蛋白家族，包括 Bcl-2 蛋白家族(B 细胞淋巴瘤 2 基因的缩写)和半胱天冬酶，这是区分两种凋亡途径的基础[13]。第一种被称为“外部”途径(与 Fas 或 TNF 死亡受体(TNFR)有关)。第二种被定义为内部途径(与线粒体相关)，由 Bcl-2 家族的相关蛋白进行。其中第一个已激活在连接细胞表面上的死亡受体(例如 CD9、TNFR)之后。Fas 在 β 细胞中的表达(外部凋亡途径)，由细胞因子和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)诱导，启动转录因子、核因子 κ b 以及信号转导子和转录激活子 1 (STAT-1)的激活，导致胱天蛋白酶级联的激活，从而实现效应机制[14]。第二种不同的机制强调线粒体过程的作用。线粒体凋亡机制的一个特征是细胞色素 c 从线粒体释放到细胞质中。其作用是激活启动子胱天蛋白酶-9，导致胱天蛋白酶-3/7 的裂解。Bcl-2 家族的蛋白质参与线粒体的完整性，是一组复杂的蛋白质。在我们核心靶点鉴别时发现 CASP3 是度值最高的一个靶点，这说明其在姜黄素治疗 2 型糖尿病的作用过程之中起到非常重要的作用。细胞凋亡在 2 型糖尿病(T2DM)的病理生理学中起着重要作用。T2DM 的病因是多因素的，包括肥胖相关的胰岛素抵抗、胰岛素分泌缺陷和通过 β 细胞凋亡导致的 β 细胞质量损失。在 T2DM 中， β 细胞凋亡是通过一个千分之一胱天蛋白酶家族级联机制介导的。葡萄糖诱导的胰岛素分泌失常是糖尿病的主要病理机制，胰岛素分泌不足导致慢性高血糖、糖尿病。最近，在体外分离的胰岛和胰岛素瘤细胞培养中，高血糖诱导的 β 细胞凋亡已经被广泛研究和证实[15]，促凋亡 Bcl-2 蛋白(Bad、Bid、Bik 和 Bax)和抗凋亡 Bcl 家族(Bcl-2 和 Bcl-xL)的平衡才能使血糖代谢趋于正常。只有当内在途径的线粒体膜上促凋亡 Bcl-2 的浓度超过抗凋亡蛋白的浓度时，才会发生凋亡。最近关于高血糖诱导 β 细胞凋亡的大量研究揭示了葡萄糖在分子水平上对 β 细胞的毒性以及三磷酸腺苷通过 K⁺通道闭合、开放 Ca²⁺通道和质膜去极化产生的细胞膜电位的复杂机制[16]。此外，使用敲除小鼠的动物模型将糖尿病作为一种葡萄糖代谢疾病复合体的病理生理学的基本理解，主要涉及抗凋亡 Bcl 家族和促凋亡基因的平衡[17]。这为更好地了解葡萄糖代谢积累了丰富的经验，并将通过改进药物合成来最终预防和治疗 2 型糖尿病。

基金项目

山东省中医药科技项目(Q-2022026)

参考文献

- [1] Carracher, A.M., Marathe, P.H. and Close, K.L. (2018) International Diabetes Federation 2017. *Journal of Diabetes*, **10**, 353-356. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12644>
- [2] Chen, M., Liu, R. and Weng, Y. (2012) Discovery and Enlightenment of the Tricarboxylic Acid Cycle. *Medicine and Philosophy*, **33**, 71-73.

- [3] Alam, F., Asiful Islam, M., Ibrahim Khalil, M. and Hua Gan, S. (2016) Metabolic Control of Type 2 Diabetes by Targeting the GLUT4 Glucose Transporter: Intervention Approaches. *Current Pharmaceutical Design*, **22**, 3034-3049. <https://doi.org/10.2174/138161282266160307145801>
- [4] He, T., Guan, X., Wang, S., Xiao, T., Yang, K., Xu, X., et al. (2015) Resveratrol Prevents High Glucose-Induced Epithelial-mesenchymal Transition in Renal Tubular Epithelial Cells by Inhibiting NADPH Oxidase/Ros/Erk Pathway. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **402**, 13-20. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.12.010>
- [5] Hou, S., Zheng, F., Li, Y., Gao, L. and Zhang, J. (2014) The Protective Effect of Glycyrrhetic Acid on Renal Tubular Epithelial Cell Injury Induced by High Glucose. *International Journal of Molecular Sciences*, **15**, 15026-15043. <https://doi.org/10.3390/ijms150915026>
- [6] Han, G., Wei, Z., Cui, H., Zhang, W., Wei, X., Lu, Z., et al. (2018) NUSAP1 Gene Silencing Inhibits Cell Proliferation, Migration and Invasion through Inhibiting DNMT1 Gene Expression in Human Colorectal Cancer. *Experimental Cell Research*, **367**, 216-221. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.03.039>
- [7] Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., et al. (2020) PubChem in 2021: New Data Content and Improved Web Interfaces. *Nucleic Acids Research*, **49**, D1388-D1395. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>
- [8] Hino, R., Uozaki, H., Murakami, N., Ushiku, T., Shinozaki, A., Ishikawa, S., et al. (2009) Activation of DNA Methyltransferase 1 by EBV Latent Membrane Protein 2A Leads to Promoter Hypermethylation of PTEN Gene in Gastric Carcinoma. *Cancer Research*, **69**, 2766-2774. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-08-3070>
- [9] Tanaka, S., Arii, S., Yasen, M., Mogushi, K., Su, N.T., Zhao, C., et al. (2008) Aurora Kinase B Is a Predictive Factor for the Aggressive Recurrence of Hepatocellular Carcinoma after Curative Hepatectomy. *British Journal of Surgery*, **95**, 611-619. <https://doi.org/10.1002/bjs.6011>
- [10] Jarvis, C.I., Goncalves, M.B., Clarke, E., Dogruel, M., Kalindjian, S.B., Thomas, S.A., et al. (2010) Retinoic Acid Receptor- α Signalling Antagonizes Both Intracellular and Extracellular Amyloid- β Production and Prevents Neuronal Cell Death Caused by Amyloid- β . *European Journal of Neuroscience*, **32**, 1246-1255. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07426.x>
- [11] Chen, Y., Chen, D., Liu, S., Yuan, T., Guo, J., Fang, L., et al. (2019) Systematic Elucidation of the Mechanism of Genistein against Pulmonary Hypertension via Network Pharmacology Approach. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article 5569. <https://doi.org/10.3390/ijms20225569>
- [12] Berger, S.I. and Iyengar, R. (2009) Network Analyses in Systems Pharmacology. *Bioinformatics*, **25**, 2466-2472. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp465>
- [13] Pan, D., Huang, B., Gan, Y., Gao, C., Liu, Y. and Tang, Z. (2022) Phycocyanin Ameliorates Colitis-Associated Colorectal Cancer by Regulating the Gut Microbiota and the IL-17 Signaling Pathway. *Marine Drugs*, **20**, Article 260. <https://doi.org/10.3390/md20040260>
- [14] Dong, S., Huang, F., Zhang, H. and Chen, Q. (2019) Overexpression of BUB1B, CCNA2, CDC20, and CDK1 in Tumor Tissues Predicts Poor Survival in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Bioscience Reports*, **39**, BSR20182306. <https://doi.org/10.1042/bsr20182306>
- [15] Kivinenummi, K., Urbanucci, A., Leinonen, K., Tammela, T.L.J., Annala, M., Isaacs, W.B., et al. (2017) The Expression of AURKA Is Androgen Regulated in Castration-Resistant Prostate Cancer. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 17978. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18210-3>
- [16] Lu, H., Zhou, Q., He, J., Jiang, Z., Peng, C., Tong, R., et al. (2020) Recent Advances in the Development of Protein-Protein Interactions Modulators: Mechanisms and Clinical Trials. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **5**, Article No. 213. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00315-3>
- [17] Zhou, Y., Zhou, B., Pache, L., Chang, M., Khodabakhshi, A.H., Tanaseichuk, O., et al. (2019) Metascape Provides a Biologist-Oriented Resource for the Analysis of Systems-Level Datasets. *Nature Communications*, **10**, Article No. 1523. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6>