

荟萃分析核桃仁抗 2 型糖尿病机制

赵声兰¹, 张凤¹, 张丽明¹, 郭琰¹, 陈朝银^{2,3}

(1. 云南中医药大学中药学院, 云南昆明 650500) (2. 云南省林业与草原科学院, 云南昆明 650201)

(3. 云南经济管理学院医学院, 云南昆明 650106)

摘要: 本研究基于荟萃法探讨了核桃仁干预 2 型糖尿病的作用机制。采用 TCMSP 数据库筛选核桃仁的主要活性成分及其潜在靶点, 通过 OMIM、TTD、Genecards 等数据库获得 2 型糖尿病相关靶点, 运用 R3.6.2 软件对活性成分靶点和疾病靶点交集, 并用 Cystoscope 3.7.2 软件构建网络图, 通过 STRING 等平台对交集靶点进行蛋白互作、GO 功能和 KEGG 通路富集分析。结果获得没食子酸、没食子单宁、五没食子酰葡萄糖等 11 个活性成分的 83 个靶点, 进一步与 2 型糖尿病相关的 3015 个靶点交集得到核桃成分干预 2 型糖尿病靶标 28 个, 主要有双氧酶 2、凝血因子 2、过氧化氢酶、IL-5 和 G6PD 等。这些靶标涉及激素代谢过程、细胞脂质代谢过程、脂肪酸生物合成过程及胆固醇代谢、对体内体外有机物和无机物的应答反应等 GO 功能过程, 主要参与糖尿病、癌症、循环系统、炎症等四大类 17 条相关通路及其它内分泌、信号传导、甲状腺和神经递质等相关 KEGG 通路。结果表明核桃仁可能通过 *PRKDI*、*PRKCA*、*PRKCB*、*PRKCE*、*PRKCZ*、*IL5*、*F2*、*CAT*、*G6PD* 等多靶点参与 MAPK 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、胰岛素抵抗和 PI3K-Akt 信号通路等信号通路调节脂质代谢, 从而实现抗 2 型糖尿病的作用。

关键词: 核桃仁; 抗糖尿病; 荟萃分析; 机制

文章编号: 1673-9078(2021)03-7-15

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.3.0198

Meta-analysis of the Mechanism of Walnut Kernel against Type 2 Diabetes

ZHAO Sheng-lan¹, ZHANG Feng¹, ZHANG Li-ming¹, GUO Yan¹, CHEN Chao-yin^{2,3}

(1.School of Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

(2.Yunnan Academy of Forestry and Grassland Sciences, Kunming 650201, China)

(3.Faculty of Medicine, Yunnan College of Business Management, Kunming 650106, China)

Abstract: The intervention mechanism of walnut kernel on type 2 diabetes was investigated by meta-analysis in this study. TCMSP database was used to screen the main active ingredients and potential targets of walnut kernels. Targets for type 2 diabetes-related diseases were searched in the OMIM, TTD and genecards databases, and the active component targets and disease targets were intersected using R3.6.2 software. A network diagram was constructed using cystoscope 3.7.2 software. The analyses of protein interaction, GO function and KEGG pathway enrichment were performed on the intersection targets through STRING. As a result, 83 targets of 11 active ingredients, such as gallic acid, gallic tannins and pentagalloylglucose were obtained, which were intersected with 3015 targets related to type 2 diabetes to obtain 28 targets of walnut component for type 2 diabetes intervention, mainly including dioxygenase 2, coagulation factor 2, and catalase, IL5 and glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase. These targets involved GO functions such as hormone metabolism, cellular lipid metabolism, fatty acid biosynthesis and cholesterol metabolism, and *in vitro* and *in vivo* responses to organic and inorganic substances, which participated mainly in four categories of disorders, diabetes, cancer, circulatory system and inflammation, along with 17 related pathways, as well as KEGG pathways such as endocrine, signal transduction, thyroid and neurotransmitter. The results showed that walnut kernels may participate in lipid metabolism regulated by signaling pathways such as MAPK, AGE-RAGE and PI3K-Akt signaling pathways with multiple targets such as *PRKDI*, *PRKCA*,

引文格式:

赵声兰,张凤,张丽明,等.荟萃分析核桃仁抗 2 型糖尿病机制[J].现代食品科技,2021,37(3):7-15

ZHAO Sheng-lan, ZHANG Feng, ZHANG Li-ming, et al. Meta-analysis of the mechanism of walnut kernel against type 2 diabetes [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(3): 7-15

收稿日期: 2020-03-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81760735); 云南省重大科技专项 (生物医药) (2018ZF013; 202002AA100005); 云南省科技厅-云南中医学院联合专项重点项目 (2019FF002-006)

作者简介: 赵声兰(1962-), 女, 教授, 研究方向: 药食资源研发与利用

PRKCB, PRKCE, PRKCZ, IL5, F2, CAT, and G6PD, to achieve type 2 diabetes intervention effects.

Key words: walnut kernel; antidiabetic; meta-analysis; mechanism

随着生活水平的提高, 2 型糖尿病的发病率逐年升高, 在 2040 年预计达到 6.42 亿人^[1]。2 型糖尿病是一种由胰岛素相对缺乏或敏感性下降引起的糖脂代谢性紊乱疾病, 会导致糖尿病肾病、眼病及残足等并发症^[2]。目前临床上治疗 2 型糖尿病大多使用化学药物, 具有一定的副作用, 相比西药, 中药成分复杂多样, 可通过多靶点、多途径、多层次、多环节来改善疾病, 治疗糖尿病具有安全、温和、持久的优点^[3]。如: 人参皂苷 CK 能通过增强大鼠肾组织的抗氧化能力, 抑制肾组织中 TGF- β 1 (转化生长因子 β 1) 的表达, 从而降低糖尿病大鼠的血糖, 调节血脂^[4]; 肉桂多酚除了通过抗氧化机制发挥作用外, 还可通过调节胰岛细胞 AKT (丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶) 信号通路而促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素, 降低血糖^[5]。

核桃系胡桃科 (Juglandaceae) 的核桃属 (*Juglan* Linn.)、山核桃属 (*Carya*)、缘核桃属 (*Annamocarya*) 等乔木植物^[6], 其果仁食用及药用价值非常高, 有健胃、补血、润肺、养神、延年益寿等功效^[7,8], 是我国传统的药食同源佳品。核桃仁含有萜醌及其苷类、黄酮及其苷类、二芳基庚烷类、萜类、有机酸类等化合物^[9], 具有抗氧化、延缓衰老、降低血液黏度、防止血栓形成等多种生物学功能^[10,11], 可用于预防糖尿病^[12]。

荟萃分析以系统生物学为基础, 阐述机体与药物相互作用的原理和规律, 可用来预测中药单体或复方的各有效成分及其作用靶点和参与的相关通路, 探索药物与疾病间的关联性, 解释药物治疗疾病的作用机制, 可称之为元分析、系统药理学或网络药理学^[13,14]。本研究运用荟萃分析探寻核桃仁化学成分防治 2 型糖尿病的潜在靶点及相关通路, 探讨核桃仁对糖尿病的多成分-多靶点的干预作用机制, 为核桃仁的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 核桃仁活性成分与潜在靶点的筛选

通过 TCMSP^[15] (Traditional Chinese Medicine Systems pharmacology) 数据库 (<http://tcmbspw.com/tcmbsp.php>) 获得中药核桃仁的化学成分, 筛选具有靶点的活性成分, 汇集各活性成分的潜在靶点并通过 Uniprot 数据库 (<http://www.uniprot.org/>) 对药物靶点的相关基因信息名称进行交集统一。

1.2 2 型糖尿病靶点搜集

在 OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (<http://www.omim.org/>)、Genecards (<http://www.genecards.org/>) 和 TTD (Therapeutic Target Database) (<https://db.idrblab.org/ttd/>) 三个疾病数据库^[16]以“Type 2 diabetes mellitus”为关键词进行搜索 2 型糖尿病相关靶点, 并将三个数据库的靶点进行归并得到 2 型糖尿病的靶点^[17]。

1.3 药物-活性成分-疾病-靶点网络和 PPI 网络构建

将活性成分靶点与疾病靶点通过 R3.6.2 软件取交集, 将交集靶点信息整理成 Excel 格式, 导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 构建核桃仁-活性成分-疾病-靶点网络图, 并运用 Meta-analysis 和 Network Analyzer 插件分析网络拓扑参数: 选取节点度 (Degree) 前三位的活性成分为主要活性成分^[18]。目前 STRING (search tool for recurring instances of neighbouring genes) 是蛋白质相互作用覆盖种类最多的数据库^[19], 将交集靶点导入 STRING (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 在线分析平台进行蛋白质-蛋白质相互作用 PPI (protein protein interaction network), 将获得的 PPI 数据导出为 TSV 文件格式并导入到 Cytoscape 3.7.2 软件绘制网络图, 利用 Metascape 和 CytoNCA 插件对其进行拓扑学分析, 包括度中心性 (DC)、特征向量 (EC)、中介中心性 (BC)、接近中心性 (CC), 各值越大代表了该点在网络图中越重要, 取 DC、EC、BC、CC 值大于其 2 倍中位数进行关键靶点筛选^[20]。

1.4 GO 功能富集和 KEGG 信号通路分析

将获得的交集靶点在 STRING 平台进行京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 的信号通路富集分析和基因本体 (GO) 的生物过程富集分析, 以 $p < 0.05$ 进行靶基因筛选, 分析核桃仁干预 2 型糖尿病的主要信号通路及生物过程^[21]。

2 结果与分析

2.1 核桃仁活性成分与靶点收集

表 1 核桃仁的 11 种潜在活性成分

Table 1 11 potential active ingredients of walnut kernel

Mol ID	Molecule Name	AlogP	OB/%	DL
MOL009101	euprostin A, prostratin A	4.86	22.25	0.01
MOL009096	Methyl 9-cyclopropylnonanoate 9-环丙基壬酸甲酯	4.22	17.47	0.06
MOL009092	Pentagalloylglucose 五没食子酰葡萄糖	3.69	3.01	0.21
MOL007019	Eugenin, Tellimagrandin II 特里马素 II, Cornustannin 2 山茱萸鞣质	3.38	10.06	0.13
MOL010726	Casuarictin 木麻黄素	3.07	40.92	0.04
MOL009100	2,2',3,3',4,4'-Tetramethoxy-6,6'-biphenyldicarboxylic acid, dimethyl ester 2,2',3,3',4,4'-四甲氧基-6,6'-联苯二甲酸二甲酯	2.96	22.9	0.48
MOL009093	1,2,3,6-Tetragalloylglucose 1,2,3,6-四没食子酰葡萄糖	2.45	3.01	0.33
MOL009115	Juglone 胡桃醌	1.49	25.74	0.07
MOL001002	ellagic acid 鞣花酸	1.48	43.06	0.43
MOL009104	glansreginin A	0.22	35.16	0.64
MOL012794	Juglanin 胡桃苷	0.19	2.73	0.65

表 2 核桃仁防治 2 型糖尿病的 28 个潜在预测靶点

Table 2 Potential 28 predicted targets of walnut kernel for type 2 diabetes

GC id	Targets	Official full name
GC01P103651	AMY1A	Amylase Alpha 1A 淀粉酶 α 1A
GC0XP067544	AR	Androgen Receptor 雄激素受体
GC11P034460	CAT	Catalase 过氧化氢酶
GC15M045092	DUOX2	Dual Oxidase 2 双氧化酶 2
GC06P151656	ESR1	Estrogen Receptor 1 雌激素受体 1
GC13P113122	F10	Coagulation Factor X 凝血因子 X
GC11P046720	F2	Coagulation Factor II, 凝血因子 II
GC17M082078	FASN	Fatty Acid Synthase 脂肪酸合酶
GC0XM154531	G6PD	Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
GC06M052750	GSTA2	Glutathione S-Transferase Alpha 2 谷胱甘肽 S-转移酶 A2
GC11M002130	IGF2	Insulin Like Growth Factor 2 胰岛素样生长因子 II
GC02P102294	IL1RL1	Interleukin 1 Receptor Like 1 白细胞介素 1 受体样 1
GC05M132541	IL5	Interleukin 5 白细胞介素 5
GC10M076869	KCNMA1	Potassium Calcium-Activated Channel Subfamily M Alpha 1 钙激活钾通道亚基 α 1
GC0XM043766	MAOB	Monoamine Oxidase B 胺氧化酶[含黄素] B
GC16P055390	MMP2	Matrix Metalloproteinase 272 kDa 胶原酶 IV
GC20P046008	MMP9	Matrix Metalloproteinase 9 基质金属蛋白酶 9
GC08M070109	NCOA2	Nuclear Receptor Coactivator 2 核受体共激活剂 2
GC17P066302	PRKCA	Protein Kinase C Alpha 蛋白激酶 C α
GC16P023872	PRKCB	Protein kinase C Beta type 蛋白激酶 C β
GC02P045651	PRKCE	Protein Kinase C Epsilon 蛋白激酶 C ϵ
GC19P053879	PRKCG	Protein Kinase C Gamma 蛋白激酶 C γ
GC01P002050	PRKCZ	Protein Kinase C Zeta 蛋白激酶 C ζ
GC14M029576	PRKDI	Protein Kinase D1 蛋白激酶 D1
GC07P144706	PRSSI	Trypsin-1 胰蛋白酶 1
GC01M186640	PTGS2	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2 前列腺素 G/H 合酶 2
GC21P031659	SOD1	Superoxide Dismutase 1 超氧化物歧化酶[Cu-Zn]
GC06P043770	VEGFA	Vascular Endothelial Growth Factor A 血管内皮生长因子 A

在 TCMSP 数据库搜索到核桃仁有作用靶点的化学成分有 11 种(见表 1), 共作用于 83 个潜在靶点。药物要通过由脂质双分子层构成的生物膜进入细胞内, 通常需有一定的疏水性。只有具有适宜的 AlogPo/w (脂水分布系数 2-6) 的药物才能在体内易于到达目标结合部位, 进而发挥药效, 过高或过低需通过乳化、修饰等适当方法加以调整。口服生物利用率(OB)低的成分(如表 1 中的胡桃昔、四没食子酰葡萄糖和五没食子酰葡萄糖)一般不宜口服给药, 可注射给药。成药性 DL (drug-like 主要由溶解性和稳定性等因素构成) 较低的也可通过包埋、乳化等适当方法加以调整。

2.2 核桃仁活性成分干预 2 型糖尿病的相关靶点

在疾病数据库以“Type 2 diabetes mellitus”为关键词搜索 2 型糖尿病相关靶点, Genecards 中选择 score ≥ 10 的靶点共获得 2968 个靶点, OMIM 数据库获得 31 个靶点, TTD 获得 81 个靶点, 合并三个数据库的靶点共有 3015 个靶点。将核桃仁活性成分靶点与 2 型糖尿病靶点通过 R 软件取交集, 得出 28 个核桃仁干预 2 型糖尿病作用靶点(见表 2)。主要有 SOD1、MAOB (胺氧化酶 B)、CAT (过氧化氢酶)、DUOX2 (双氧化酶 2)、G6PD (葡萄糖-6-磷酸脱氢酶)、GSTA2 (谷胱甘肽 S-转移酶 A2) 等氧化还原酶类, MMP9 (基质金属蛋白酶 9)、PRSSI (胰蛋白酶 1)、MMP2 (胶原酶 IV)、PTGS2 (前列腺素 G/H 合酶 2)、FASN (脂肪酸合酶) 以及激酶类的 PRKCA (蛋白激酶 α)、PRKCB、PRKCG、PRKCE、PRK CZ、PRKDI, 因子类的 IL5 (白介 5)、ILRL1、IGF2 (胰岛素样生长因子 II)、F10 (凝血因子 X)、F2、VEGFA (血管内皮生长因子 A), 以及 ESRI (雌激素受体 1)、NCOA2 (核受体共激活剂 2) 等。

2.3 核桃仁活性成分-干预 2 型糖尿病靶点可视化网络

采用 Cytoscape 3.7.2 软件构建核桃仁-活性成分-疾病-靶点网络图(图 1), 图中包含 39 个节点(1 个中药, 1 个疾病, 9 个活性成分与 28 个靶点), 组成了 74 条核桃仁活性成分与 2 型糖尿病靶点之间相互作用关系, 其中鞣花酸(ellagic acid)作用于 GSTA2、MMP2、MMP9、PRKCB 和 AR 等 8 个靶点, 五没食子酰葡萄糖(Pentagalloylglucose)作用于 PRKCB、PRK CZ、FASN 和 F2 等 8 个靶点, 胡桃醌(juglone)作用于 G6PD1、DUOX2、IL-5 和 SOD 等 6 个靶点, euprostin

A 作用于 PRKCB、PRK CZ 和 PRKCA 等靶点, 9-环丙基壬酸甲酯(Methyl 9-cyclopropylnonanoate)分别作用于 PTGS2、MAOB 和 NCOA2 等靶点, 2,2',3,3',4,4'-四甲氧基-6,6'-联苯二甲酸二甲酯(2,2',3,3',4,4'-Tetramethoxy-6,6'-biphenyldicarboxylic acid, dimethyl ester)作用于 KCNMA1 (钙激活钾通道亚基 $\alpha 1$) 和 PTGS2 等靶点, 没食子单宁(Eugenin)、胡桃昔(Juglanin)分别作用于 2 个靶点, 且 PRKCA、PRKCB 和 PRKCE 等靶点同时对应于 euprostin A 和 Methyl 9-cyclopropylnonanoate 等活性成分, F2 和 F10 等靶点同时对应于 Eugenin、Methyl 9-cyclopropylnonanoate 等成分, 体现出中药多成分、多靶点的作用体系。

根据拓扑学分析, 节点度为前三位的是五没食子酰葡萄糖(9)、鞣花酸(8)和胡桃醌(6), 有相关文献报道, 五没食子酰葡萄糖具有缓解胰岛素抵抗、减少胰岛淀粉样多肽、模拟胰岛素和刺激葡萄糖转运等作用, 可作为治疗糖尿病的先导化合物的候选化合物之一^[22]; 鞣花酸可能通过改善糖尿病小鼠肝脏胰岛素信号通路和促进肝脏自噬流来改善糖尿病小鼠肝脏自噬障碍等机制来达到降糖保肝作用^[23], 此外, 鞣花酸可能通过下调 TXNIP、IL-1 β 炎症信号和抑制凋亡来改善糖尿病小鼠胰腺^[24], 说明鞣花酸是潜在的抗糖尿病的化合物^[25]; 胡桃醌可抑制人肝癌 HepG2 细胞增殖, 促进细胞周期阻滞和凋亡^[26]。由此可见, 鞣花酸、五没食子酰葡萄糖和胡桃醌可能是核桃仁干预 2 型糖尿病的主要活性成分。

2.4 PPI 蛋白互作网络

不同的靶点和信号通路之间会存在一定程度的信号转导, 药物的治疗作用除表现为成分靶点的直接结合外, 更多见于直接调控靶点与间接调控其他靶点相结合的调控方式, 研究蛋白之间的相互作用网络, 有助于挖掘核心的调控基因。将药物靶点与疾病靶点的 28 个交集靶点导入 STRING 数据库进行 PPI 蛋白互作网络, 结果如图 2, 网络中包含 28 个节点, 77 个边数, 平均节点数 5.5, 根据拓扑学分析, DC、EC、BC 和 CC 的中位数分别是: 1、0.0396、0、0.351, 取 DC、EC、BC、CC 大于其 2 倍中位数进行关键节点筛选, 得到 PPI 网络图的关键节点^[27], 该网络的关键节点(节点数 ≥ 5)包括 PRKDI、PRKCA、PRKCB、PRKCE、PRK CZ、PRKCG、IL5、DUOX2、F2、CAT、G6PD、SOD、PTGS2、MMP2、MMP9、ESRI、VEGFA、AR、FASN、IGF2, 这些关键靶点起到连接其它蛋白的重要作用, 且可能是核桃仁干预 2 型糖尿病的靶蛋白。

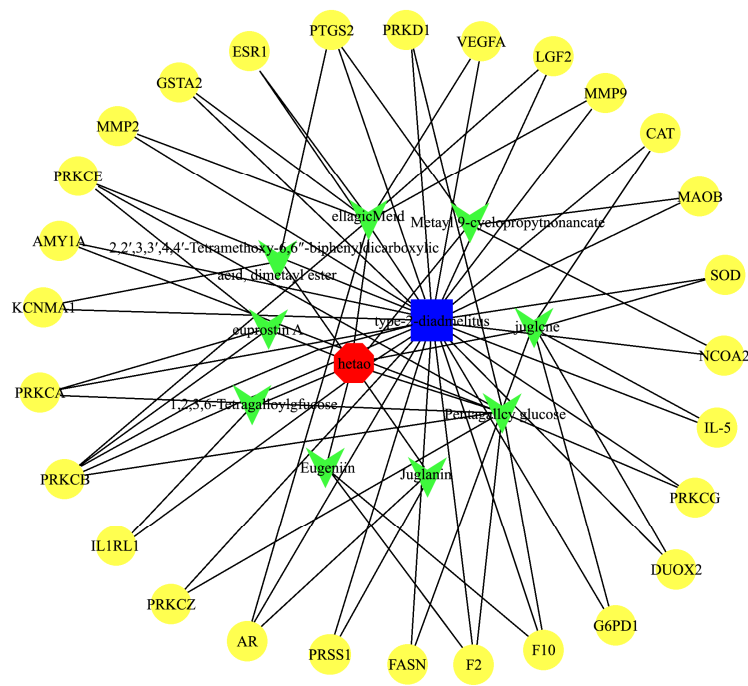


图1 核桃仁-活性成分-疾病-靶点网络

Fig.1 Walnut kernel-active ingredient-disease-target network

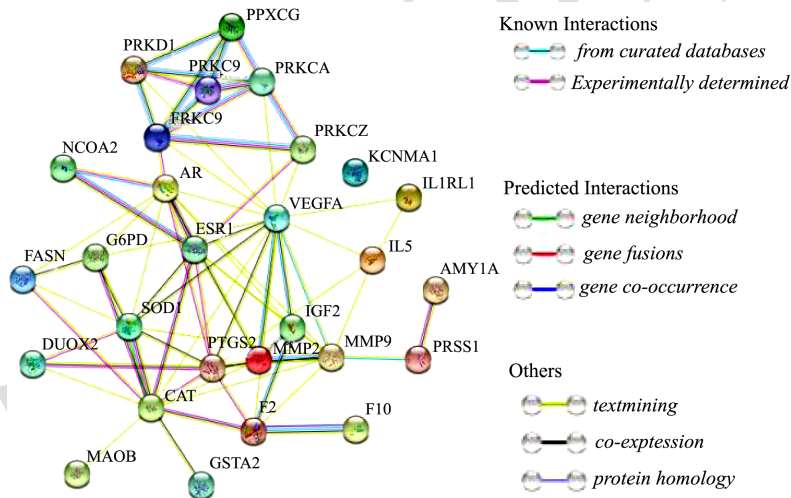


图2 药物-疾病靶标相互作用图

Fig.2 Drug-disease target interaction diagram

2.5 核桃仁干预2型糖尿病的GO功能富集

将交集靶点基因在 STRING 数据库进行 GO 生物过程富集,筛选到 $p<0.05$ 的 GO 生物过程 432 条,GO 分子功能过程 49 条,GO 细胞成分过程 6 条。GO 生物过程按 p 值从小到大排前 20 的结果(见图 3a)依次为:对有机物的应答、对刺激应答的正向调控、对含氧化合物的应答、对胞内信号转导的调节、对有机物的细胞应答、对细胞通信的正向调节、信号的正向调节、对化学刺激的细胞应答、对信号转导的正向调节,以及对生物加工的正调控、对细胞加工的正调控、细胞增殖的正调控、转运方面的调节、DNA 结合转录

因子活性的正调控、有机氮化合物代谢加工、蛋白磷酸化正调控、定位调控等。

GO 分子功能注释结果按照 p 值从小到大排前 20 的结果(见图 3b)依次为:蛋白激酶 C 活性、催化活性、钙依赖性蛋白激酶 C 活性,离子结合、丝氨酸型内肽酶活性、抗氧化活性、蛋白结合、醇基作为受体的磷酸转移酶活性、锌结合、组氨酸激酶活性、激酶活性、标识蛋白结合、作用于蛋白的催化活性、信号受体结合、过氧化物酶活性、NADP(辅酶 II)结合、氧化还原酶活性等。GO 细胞组分注释结果按照 P 值从小到大排前的结果(见图 3c)包括:胞外间隙、质膜、细胞外区部分、细胞外基质和内膜系统。

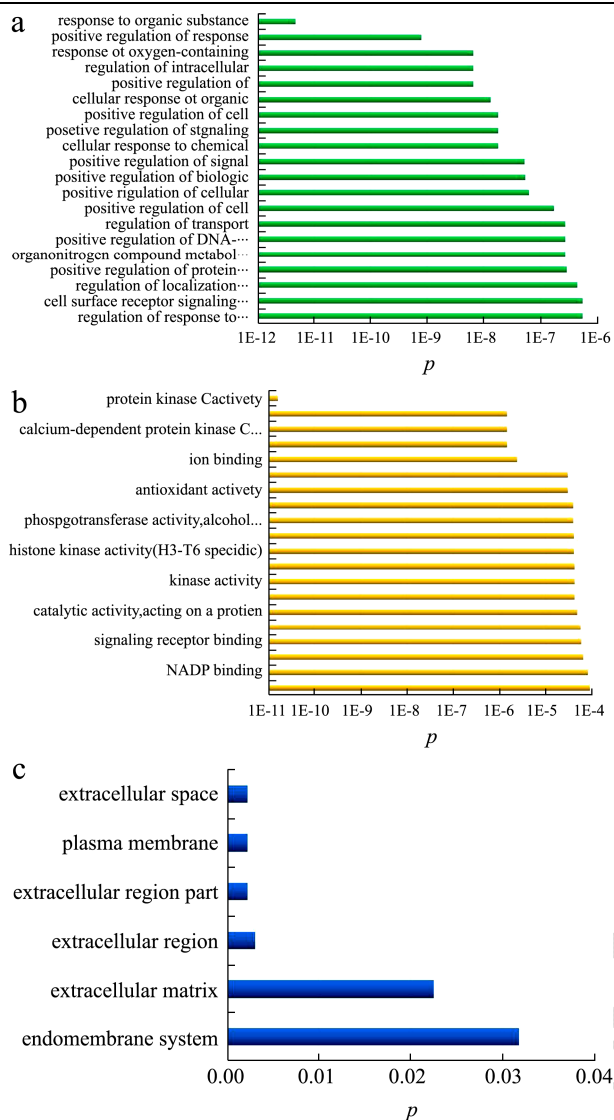


图3 核桃仁干预2型糖尿病的GO注释

Fig.3 GO function annotation of walnut kernel intervention 2 diabetes

注: a: 前20条生物过程功能注释; b: 前20条分子功能注释; c: 细胞成分注释。

以上结果表明, 糖尿病发病涉及多个体内生物过程的异常, 同时说明核桃仁中的多个成分参与了多个体内生物过程来共同干预糖尿病的发生。核桃含有萜醌及其苷类、黄酮及其苷类等化合物, 具有抗氧化、延缓衰老、降低血液黏度、防止血栓形成等多种生物学功能^[11,28], 这与本研究的GO功能分析结果显示细胞对含氧化合物的反应、过氧化氢代谢过程及生物合成等过程有关。

2.6 核桃仁干预2型糖尿病的KEGG信号通路分析

将交集靶点导入STRING数据库中筛选出 $p < 0.05$

的信号通路86条及其相关靶标, 按 p 值从小到大排列的主要信号通路注释及其相关靶标见图4。直接参与糖尿病相关的通路有9条: AGE-RAGE (糖尿病并发症中的糖基化终末产物受体) 信号通路、MAPK (腺苷酸激活蛋白激酶) 信号通路、胰岛素抵抗、胰岛素分泌、PI3K-Akt (肌醇磷脂激酶-蛋白激酶) 信号通路、胰腺分泌、2型糖尿病、胰岛素信号通路、碳代谢, 参与循环系统相关信号通路4条: VEGF (血管内皮生长因子) 信号通路、HIF-1 (hypoxia inducible factor-1, 缺氧诱导因子-1) 信号通路、cGMP-PKG (环磷鸟苷-蛋白激酶G) 信号通路、血管平滑肌收缩; 内分泌相关的通路2条: 促性腺激素 (GnRH) 信号通路、雌激素 (Estrogen) 信号通路; 炎症相关通路2条: IL-17信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路、自然杀伤细胞介导的细胞毒性; 信号传导相关的通路4条: VEGF信号通路、松弛素信号通路、单体GTP结合蛋白Ras信号通路、HIF-1信号通路; 癌相关通路3条: 膀胱癌、肝细胞癌、癌相关MicroRNA; 甲状腺相关通路2条: 甲状腺激素合成、甲状腺激素信号通路; 神经递质通路3条: 胆碱能突触、谷氨酸能突触、血清素神经突触及与血清素代谢有关的色氨酸代谢; 另有与氧化应激相关的谷胱甘肽代谢等信号通路。

由图4可知, *RKCE*、*PRKCZ*等靶点参与2型糖尿病信号通路, *IGF2*、*PRKCA*、*PRKCB*、*PRKCG*和*VEGFA*等靶点参与MAPK信号通路, *MMP2*、*PRKCA*、*PRKCB*、*PRKCE*、*PRKCZ*和*VEGFA*等靶点参与糖尿病并发症的AGE-RAGE信号通路, *IGF2*、*PRKCA*和*VEGFA*等靶点参与PI3K-Akt信号通路, *PRKCB*、*PRKCE*和*PRKCZ*等靶点参与胰岛素抵抗通路, *IL5*、*MMP9*和*PTGS2*等靶点参与IL-17信号通路, *MMP9*和*PTGS2*参与肿瘤坏死因子信号通路。由此可见核桃仁可能是通过调控*PRKCA*、*PRKCB*、*PRKCE*、*PRKCZ*、*IGF2*、*IL5*、*MMP9*和*PTGS2*等靶点参与2型糖尿病信号通路、MAPK信号通路、PI3K-Akt信号通路等信号通路达到干预2型糖尿病的作用。

PPI网络图发现*PRKDI*、*PRKCA*、*PRKCB*、*PRKCE*、*PRKCZ*、*IL5*、*F2*、*CAT*、*G6PD*等靶点是蛋白互作的关键蛋白, 起到连接其它蛋白的重要作用, 通过KEGG富集分析结果发现这些关键靶蛋白参与糖尿病、癌症、循环系统、炎症等四大类17条相关通路及其他内分泌、信号传导、甲状腺和神经递质相关通路中。本研究发现与糖尿病相关通路主要是糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路、MAPK信号通路、胰岛素抵抗、胰岛素分泌、PI3K-Akt信号通路、2型糖尿病、胰岛素信号通路和谷胱甘肽代谢等相关通路。

AMPK 是生物能量代谢调节的关键分子,可以调节脂肪酸氧化和线粒体功能,促进葡萄糖转运蛋白 GLUT4 转运到质膜,增加葡萄糖摄取,是研究糖尿病及其他代谢相关疾病的核心^[29,30]。胰岛素是机体内唯一降血糖的激素,胰岛素信号通路是一条很重要的 2 型糖尿病通路,对糖尿病的发展非常重要^[31]。由此可见,核

桃仁活性成分可能通过 *PRKDI*、*PRKCA*、*PRKCB*、*PRKCE*、*PRKCZ*、*IL5*、*F2*、*CAT*、*G6PD* 等多靶点参与 MAPK 信号通路、AGE-RAGE 信号通路、胰岛素抵抗和 PI3K-Akt 信号通路等多条信号通路调节脂质代谢,从而实现干预 2 型糖尿病的作用。

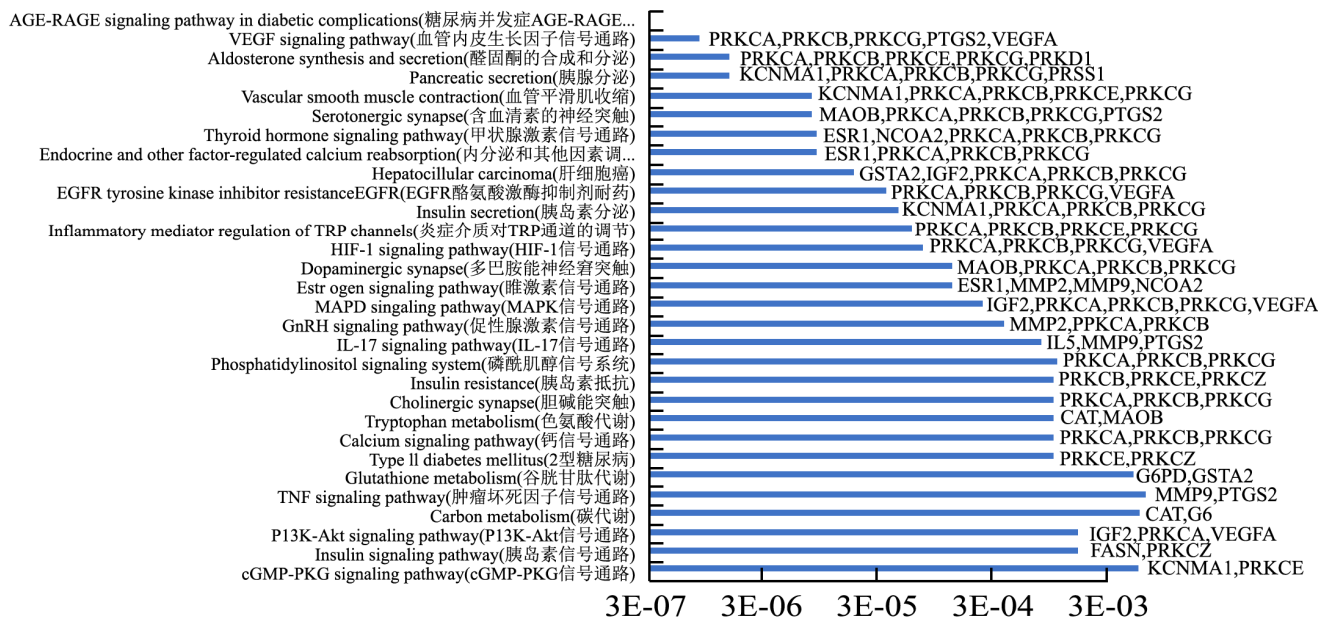


图 4 核桃仁干预 2 型糖尿病的 KEGG 主要信号通路注释及其相关靶点

Fig.4 Annotated diagram of KEGG main related signal pathways and targets of walnut kernel in type 2 diabetes

3 结论

本研究应用荟萃分析方法筛选出没食子酸、没食子单宁、五没食子酰葡萄糖、木麻黄素及胡桃醌等 11 个核桃仁活性成分及其 83 个潜在靶点,与糖尿病靶点交集的有 28 个靶点,其中鞣花酸和五没食子酰葡萄糖分别作用于前列腺素 G/H 合酶 2 和蛋白激酶等 8 个靶点,胡桃醌作用于葡萄糖 6 磷酸脱氢酶 1 等 6 个靶点,蛋白激酶 α 、 β 、 ϵ 等靶点同时受 euprostin A 和 9-环丙基壬酸甲酯等活性成分所作用,凝血因子 II 和 X 等靶点同时受没食子单宁、9-环丙基壬酸甲酯等成分作用,体现了核桃仁多成分、多靶点协同干预 2 型糖尿病的作用机制^[2]。

参考文献

- [1] Collaboration N R F. Worldwide trends in diabetes since 1980: a pooled analysis of 751 population-based studies with 4.4 million participants [J]. Lancet, 2016, 387(10027): 1513-1530
- [2] 胡吉蕾,郑乐愉,唐薇,等.赶黄草水提取物对高脂饮食联合

STZ 诱导的 II 型糖尿病大鼠的降血糖作用[J].现代食品科技,2020,36(2):25-31

HU Ji-lei, ZHENG Le-yu, TANG Wei, et al. Hypoglycemic effect of Ganhuang grass water extract on type 2 diabetes rats induced by high-fat diet combined with STZ [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(2): 25-31

- [3] Drozd-sokolowska J, Zaucha J M, Biecek P, et al. Type 2 diabetes mellitus compromises the survival of diffuse large B-cell lymphoma patients treated with (R)-CHOP-the PLRG report [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 3517
- [4] 刘妮,安丽萍.人参皂苷 CK 对 2 型糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J].北华大学学报(自然科学版),2019,20(3):315-319
- LIU Ni, AN Li-ping. Protective effect of ginsenoside CK on the kidney of type 2 diabetic rats [J]. Journal of Beihua University (Natural Science Edition), 2019, 20(3): 315-319
- [5] 廖作庄,徐灵源,王金妮,等.肉桂多酚对链脲佐菌素致糖尿病小鼠的保护作用[J].西安交通大学学报(医学版),2019, 40(1):162-166
- LIAO Zuo-zhuang, XU Ling-yuan, WANG Jin-ni, et al. Protective effect of cinnamon polyphenols on

- streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Edition), 2019, 40(1): 162-166
- [6] 王小双,刘基,林玉萍,等.核桃壳总黄酮超声提取工艺的优化[J].中国果树,2018,1:96-99
- WANG Xiao-shuang, LIU Ji, LIN Yu-ping, et al. Optimization of ultrasonic extraction process of total flavonoids from walnut shell [J]. China Fruit Tree, 2018, 1: 96-99
- [7] Acquaviva R, D'angeli F, Malfa G A, et al. Antibacterial and anti-biofilm activities of walnut pellicle extract (*Juglans regia* L.) against coagulase-negative staphylococci [J]. Nat Prod Res, 2019, 9: 1-6
- [8] Atila U G, Uslu H. Evaluating the effects of *Juglans regia* L. extract on hyperglycaemia and insulin sensitivity in experimental type 2 diabetes in rat [J]. Arch Physiol Biochem, 2019, 23: 1-5
- [9] Liu B, Liang J, Zhao D, et al. Morphological and Compositional analysis of two walnut (*Juglans regia* L.) cultivars growing in China [J]. Plant Foods Hum Nutr, 2020, 75(1): 116-123
- [10] Hu Q, Liu J, Li J, et al. Phenolic composition and nutritional attributes of diaphragma juglandis fructus and shell of walnut (*Juglans regia* L.) [J]. Food Sci Biotechnol, 2020, 29(2): 187-196
- [11] 姚焕英,唐静成,张鞍灵,等.核桃属植物化学成分及生物活性研究[J].西北植物学报,2003,9:1650-1655
- YAO Huan-ying, TANG Jing-cheng, ZHANG An-ling, et al. Studies on the chemical constituents and biological activities of *Juglans* plants [J]. Northwestern Journal of Botany, 2003, 9: 1650-1655
- [12] Li Y, Chen D, Xu C, et al. Glycolipid metabolism and liver transcriptomic analysis of the therapeutic effects of pressed degreased walnut meal extracts on type 2 diabetes mellitus rats [J]. Food Funct, 2020, 11(6): 5538-5552
- [13] Yang S, Zhang J, Yan Y, et al. Network pharmacology-based strategy to investigate the pharmacologic mechanisms of *Atractylodes macrocephala* Koidz. for the Treatment of chronic gastritis [J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1629
- [14] He D, Huang J H, Zhang Z Y, et al. A network pharmacology-based strategy for predicting active ingredients and potential targets of Liuwei Dihuang pill in treating type 2 diabetes mellitus [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3989-4005
- [15] Ru J, Li P, Wang J, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. J Cheminform, 2014, 6: 13
- [16] Wang Y, Zhang S, Li F, et al. Therapeutic target database 2020: enriched resource for facilitating research and early development of targeted therapeutics [J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(D1): D1031-D1041
- [17] 郑丽,莫娟芬,吴加元,等.基于网络药理学的虎杖抗高血脂作用及信号通路研究[J].中国临床药理学与治疗学,2019, 24(10):1107-1119
- ZHENG Li, MO Juan-fen, WU Jia-yuan, et al. Research on anti-hyperlipidemic effects and signal pathways of *Polygonum cuspidatum* based on network pharmacology [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2019, 24(10): 1107-1119
- [18] 张晶,李冰冰,黄敏仪,等.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[J].中草药,2020,3:1-12
- ZHANG Jing, LI Bing-bing, HUANG Min-yi, et al. The mechanism of Shenqi Jiangtang granules in the treatment of type 2 diabetes based on network pharmacology [J]. Chinese Herbal Medicine, 2020, 3: 1-12
- [19] Zinsmaier K E. Cysteine-string protein's neuroprotective role [J]. J Neurogenet, 2010, 24(3): 120-132
- [20] Kim S, Darcy I K. A topological analysis of difference topology experiments of condensin with topoisomerase II [J]. Biol Open, 2020, 9(4)
- [21] 高莹,张晶璇,黄羚.基于网络药理学挖掘玉米须干预糖尿病的机制研究[J].天津中医药,2019,36(7):705-709
- GAO Ying, ZHANG Jing-xuan, HUANG Ling. Research on the mechanism of mining corn silk intervention diabetes based on network pharmacology [J]. Tianjin Traditional Chinese Medicine, 2019, 36(7): 705-709
- [22] 张建博,谢雨,杨浩然,等.五没食子酰基葡萄糖治疗 2 型糖尿病及其并发症药效机制研究进展[J].药学研究,2015, 34(6):344-348
- ZHANG Jian-bo, XIE Yu, YANG Hao-ran, et al. Progress in the research of pentagalloyl glucose in the treatment of type 2 diabetes and its complications [J]. Pharmaceutical Research, 2015, 34(6): 344-348
- [23] 田亚丽,巴合提别克·托合塔尔拜克,古丽海夏·哈勒玛合拜,等.鞣花酸促进自噬性清除改善 2 型糖尿病小鼠肝脏胰岛素信号通路[J].时珍国医国药,2019,30(10):2353-2356
- TIAN Ya-li, Bahetibek Tohe-talbaike, Gulihexiulihebia Hale-mahebai, et al. Ellagic acid promotes autophagic clearance and improves liver insulin signaling pathway in type 2 diabetic mice [J]. Time Zhen Chinese Medicine and Materia Medica, 2019, 30(10): 2353-2356

- [24] Tuohetaerbaik B, Zhang Y, Tian Y, et al. Pancreas protective effects of urolithin A on type 2 diabetic mice induced by high fat and streptozotocin via regulating autophagy and AKT/mTOR signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 250: 112479
- [25] Sharma P, Joshi T, Joshi T, et al. In silico screening of potential antidiabetic phytochemicals from *Phyllanthus emblica* against therapeutic targets of type 2 diabetes [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 248: 112268
- [26] 王鹏.胡桃楸中活性成分胡桃醌诱导肝癌细胞自噬和凋亡的分子机制研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2019
WANG Peng. Study on the molecular mechanism of jugquinone, an active ingredient in *Juglans mandshurica*, in inducing autophagy and apoptosis of liver cancer cells [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2019
- [27] Li J, Huang Y, Zhao S, et al. Based on network pharmacology to explore the molecular mechanisms of *Astragalus membranaceus* for treating T2 diabetes mellitus [J]. Ann Transl Med, 2019, 7(22): 633
- [28] Pycia K, Kapusta I, Jaworska G. Impact of the degree of maturity of walnuts (*Juglans regia* L.) and their variety on the antioxidant potential and the content of tocopherols and polyphenols [J]. Molecules, 2019, 24(16): 2936
- [29] Feng T, Li K, Zheng P, et al. Weighted gene coexpression network analysis identified microRNA coexpression modules and related pathways in type 2 diabetes mellitus [J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 9567641
- [30] 王新苗,张海宇,魏秀秀,等.糖脂代谢紊乱机制研究及中医药防治的进展[J].辽宁中医杂志,2020,47(2):214-217
WANG Xin-miao, ZHANG Hai-yu, WEI Xiu-xiu, et al. Research on mechanism of glucose and lipid metabolism disorder and progress in prevention and treatment of traditional Chinese medicine [J]. Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 47(2): 214-217
- [31] Abo E N, Saleh D O, Mahmoud S S, et al. Olmesartan attenuates type 2 diabetes-associated liver injury: cross-talk of AGE/RAGE/JNK, STAT3/SCOS3 and RAS signaling pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2020, 874: 173010

(上接第 76 页)

- [18] 徐康,路遥,宋英琿,等.基于 GC-FID,HS-SPME-GC-MS 与电子鼻技术评价不同水果发酵酒的香气特征[J].食品与发酵工业,2018,44(12):229-236
XU Kang, LU Yao, SONG Ying-hui, et al. Evaluation of aroma characteristic in various fruit wines by GC-FID, HS-SPME-GC-MS and electronic nose [J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(12): 229-236
- [19] González B C, Rial O R, Cancho G B, et al. Wine aroma compounds in grapes: a critical review [J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 2015, 55(2): 202-218
- [20] Tang Z S, Zeng X A, Brennan C S, et al. A novel method for detection of fusel oil in wine by the use of headspace gas chromatography [J]. Food Analytical Methods, 2017, 10(10): 3338-3349

(上接第 138 页)

- [27] 傅玉凡,杨春贤,赵亚特,等.不同叶菜型甘薯品种茎尖绿原酸含量及清除 DPPH 能力[J].中国农业科学,2010,43(23): 4814-4822
FU Yu-fan, YANG Chun-xian, ZHAO Ya-te, et al. Chlorogenic acid content and DPPH removal ability in stem tips of different leafy vegetable sweet potato varieties [J]. Chinese Agricultural Sciences, 2010, 43(23): 4814-4822
- [28] 曾晖.不同产地红薯梗、茎、叶提取物的抗氧化性能研究[J].河北北方学院学报(医学版),2010,27(5):25-27
ZENG Hui. Study on the antioxidant properties of sweet potato stems, stems and leaves from different producing areas [J]. Journal of Hebei North University (Medical Edition), 2010, 27(5): 25-27
- [29] 靳艳玲,谭力,杨林,等.不同品种甘薯不同部位的抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2019,40(12):51-58
JIN Yan-ling, TAN Li, YANG Lin, et al. Antioxidant activity of different parts of sweet potato of different varieties[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12): 51-58