

本文引文格式:詹磊.基于生物信息学分析揭示枸杞红素抗青光眼靶点及分子机制的研究[J].右江民族医学院学报,2023,45(4):602-606,612.

【论著与临床报道】

基于生物信息学分析揭示枸杞红素抗青光眼靶点及分子机制的研究

詹磊

(中南大学湘雅二医院桂林医院眼科,广西 桂林 541001)

摘要:目的 本研究拟通过网络药理学研究策略旨在揭示枸杞红素抗青光眼的药理靶点及分子机制。方法 运用整合数据库分别获取枸杞红素治疗靶点和青光眼病理靶点,并经映射后获得枸杞红素治疗青光眼的潜在靶点。采用 STRING 数据库获得靶点-靶点功能相关蛋白间的网络关联图。运用 Cytoscape 软件 Network Analyzer 分析网络自由度中位数和最大自由度等拓扑参数,并根据 Degree 值筛选现枸杞红素抗青光眼的核心靶点。此外,应用 R 语言中的“ClusterProfiler”、“org. Hs. eg. Db”、“ggplot2”等数据包对核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析及可视化。结果 生物信息学分析筛选出 128 个枸杞红素、1196 个青光眼潜在靶点及 19 个共有靶点。GO 富集分析结果表明枸杞红素抗青光眼药理活性可能与通过调控这些核心靶点有关,提示枸杞红素通过多靶点调控进而发挥治疗青光眼的潜在作用。KEGG 富集分析结果显示,枸杞红素抗青光眼作用可能与调控眼组织细胞因子活性,内环境稳态及激活神经修复因子/受体活性进而促进神经细胞增殖或修复有关。此外,枸杞红素抗青光眼分子机制可能与抗炎症反应、氧化损伤、细胞凋亡及增强免疫调控等信号通路有关。结论 枸杞红素可能是抗青光眼的潜在活性成分,并通过多靶点和多通路共同作用发挥抗青光眼活性。

关键词:青光眼;枸杞红素;生物信息学;药理靶点;分子机制

中图分类号:R775 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2023)04-0602-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.04.009

Study on the anti-glaucoma target and molecular mechanism of Zeaxanthin dipalmitate based on bioinformatics analysis

Zhan Lei

(Department of Ophthalmology, Guilin Hospital of the Second Xiangya Hospital CSU, Guilin 541001, Guangxi, China)

Abstract: Objective This study aims to reveal pharmacological targets and molecular mechanisms of Zeaxanthin dipalmitate in the treatment of glaucoma through network pharmacological research strategies.

Methods Integrated databases were utilized to obtain the therapeutic targets of Zeaxanthin dipalmitate and the pathological targets of glaucoma. Mapping techniques were employed to identify potential targets of Zeaxanthin dipalmitate for glaucoma treatment. The STRING database was used to construct a network correlation graph between the targets and function-related proteins. Network Analyzer was utilized to analyze topological parameters, such as median and maximum degrees of freedom, and the core target of antiglaucoma of Zeaxanthin dipalmitate was selected according to the Degree value. In addition, GO and KEGG enrichment analysis and visualization of the core targets were performed using R language packages, including ClusterProfiler, org. Hs. eg. Db, and ggplot2. **Results** Bioinformatics analysis identified 128 potential targets of Zeaxanthin dipalmitate, 1196 potential targets of glaucoma, and 19 common targets. The results of GO enrichment analysis showed that the anti-glaucoma pharmacological activity of Zeaxanthin dipalmitate may be related to the regulation of

these core targets, suggesting its potential role in the treatment of glaucoma through multi-target regulation. KEGG enrichment analysis showed that the anti-glaucoma effect of Zeaxanthin dipalmitate may be related to the regulation of ocular tissue cytokine activity, homeostasis of internal environment and activation of nerve repair factor/receptor activity to promote the proliferation or repair of nerve cells. In addition, the molecular mechanism of Zeaxanthin dipalmitate against glaucoma may be related to the signaling pathways of anti-inflammation, oxidative damage, cell apoptosis and enhanced immune regulation. **Conclusion** Zeaxanthin dipalmitate may serve as a potential active ingredient in the treatment of glaucoma, exerting its anti-glaucoma activity through multi-target and multi-pathway interactions.

Key words: glaucoma; Zeaxanthin dipalmitate; bioinformatics; pharmacological target; molecular mechanism

青光眼(glaucoma)是一种以进行性视神经退化为特征的疾病,可导致视野丧失和不可逆失明^[1]。青光眼是在世界范围内导致不可逆视力丧失的主要原因。因为其可能在相对晚期之前是无症状的,所以往往较迟被诊断^[2]。青光眼的病理生理学一个关键因素是视网膜神经节细胞(RGCs)死亡^[3],RGCs是一群中枢神经神经元,其中体细胞位于视网膜内部,轴突位于视神经中^[4]。因此,延迟或阻断 RGCs 死亡策略已被认为可能有利于青光眼患者的视力保护。目前,一线青光眼治疗通常开始使用局部选择性或非选择性 β -阻滞剂或局部前列腺素类似物。二线药物的选择包括激动剂和局部碳酸酐酶抑制剂^[5]。同时,越来越多的青光眼患者使用药用植物作为替代药物^[6],如银杏、越桔、大麻和枸杞。枸杞,富含活性成分,具有保肝护目功效^[7]。枸杞红素,枸杞活性成分之一,是一种强氧化剂,具有明显的药理活性,包括肝脏细胞保护作用^[8]。研究表明,枸杞红素能够发挥抑制凋亡因子、炎症因子表达、及提高氧化还原能力发挥细胞保护作用^[9]。因此,可推测枸杞红素具有抗青光眼的治疗潜能。近年来,网络药理学(network pharmacology)在建立“化合物-蛋白质/基因-疾病”网络和高通量揭示小分子调控原理方面更为有效,这种方法对于药物组合的分析非常有效,特别是中药活性药理分析^[10]。早期研究通过网络药理学分析策略揭示了谷胱甘肽通过调控铁死亡抗口腔癌治疗靶点和分子机制^[11]。因此,本研究利用网络药理学等生物信息学分析方法,旨在揭示枸杞红素抗青光眼药理靶点及分子机制,进而为枸杞红素临床治疗青光眼提供理论依据。

1 方法

1.1 枸杞红素治疗作用靶点的筛选 运用 Superpred 数据库(<http://prediction.charite.de/>)获取枸杞红素的作用靶点,并通过 Universal Protein Knowledgebase(UniProtKB; <https://www.uniprot.org/>)数据库^[2]中的 reviewed(Swiss-Prot)and Human 进行

靶点矫正;应用 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)数据库、Online Mendelian Inheritance in Man(OMIM;<https://omim.org/>)数据库查找青光眼相关作用靶点。最后,将各个数据库枸杞红素靶点与青光眼相关靶点进行 Venn 图映射(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>),获得枸杞红素治疗青光眼作用的靶点。

1.2 核心靶点的筛选及其蛋白质相互作用(PPI)网络构建 将映射后获得的枸杞红素治疗青光眼作用靶点在 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)中获得靶点-靶点功能相关蛋白间的网络互作关系,限定置信系数为 0.7,得到靶点相互作用 PPI 网络图及其 tsv. 数据。运用 Cytoscape(3.8.2 版本)软件(<https://cytoscape.org/>下载链接)中 Network Analyzer 分析网络中自由度中位数和最大自由度等拓扑参数,并根据 Degree 值筛选核心靶点,筛选范围上限为拓扑数据中的最大 Degree 值,下限为自由度中位数。

1.3 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 应用 R 语言中的“ClusterProfiler”、“org.Hs.eg.Db”、“ggplot2”等 R 包对核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析和可视化,基因注释信息来自“org.Hs.eg.Db”,富集时的 $p\text{-value}=0.05$, $q\text{-value}=0.05$,输出其相应的气泡图和圈图。

1.4 网络关系可视化图形构建 运用 Cytoscape(3.8.2版本)软件对枸杞红素治疗青光眼靶点的基因本体生物过程和通路富集的结果进行药物-疾病-靶点-基因本体-通路可视化图形的构建。

2 结果

2.1 枸杞红素治疗青光眼作用靶点的筛选 运用 Superpred 数据库搜索药物的作用靶点,经 UniProtKB 数据库矫正,共获取 128 个枸杞红素的靶点。应用 GeneCards 等数据库获得 1 196 个青光眼相关的作用靶点,将药物靶点与疾病靶点进行 Venn 图映射,获得 19 个枸杞红素治疗青光眼作用的靶点,见图 1。

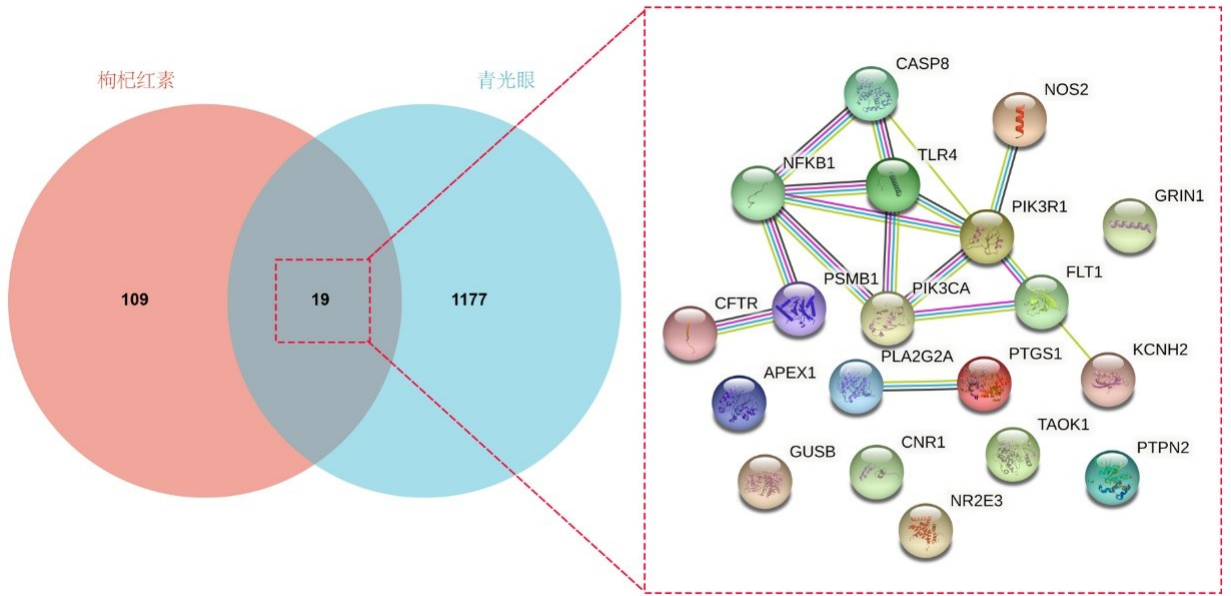


图 1 韦恩图分析确定枸杞红素、青光眼的潜在靶点及其共有靶点

2.2 PPI 网络构建及其核心靶点的筛选 应用 STRING 数据库收集这 19 个靶点功能相关的蛋白-蛋白相互作用数据,构建其功能相关蛋白相互作用网络如图 1 所示。导入 Cytoscape,计算枸杞红素治疗青光眼靶点及功能相关蛋白互作网络的拓扑参数,可得靶点自由度的中位数为 2.5,最大自由度为 6,因此将核心靶点筛选条件范围设为 2.5~6,最终获得 6 个核心靶点,分别为 PIK3R1、NFKB1、TLR4、PIK3CA、CASP8、FLT1,见图 2。

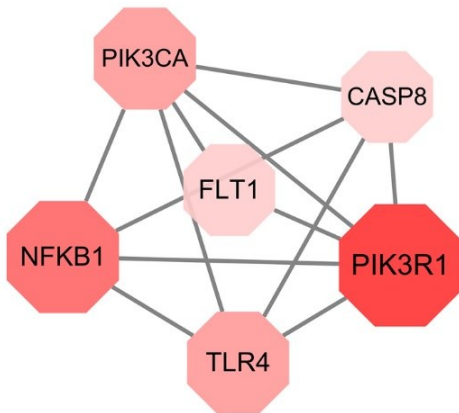


图 2 枸杞红素抗青光眼的潜在药理靶点

2.3 基因本体 GO 和 KEGG 通路富集分析 将映射的靶点导入 R 语言中的相关包进行 GO 和 KEGG 富集分析,输出生物过程(BP),分子成分(CC)和分子功能(MF)的气泡图(见图 3),KEGG 通路富集的气泡图(见图 4)。结果表明,相关基因本体 BP 主要涉及细胞对非生物刺激的反应、细胞对环境刺激的反应、机械刺激反应、细胞对机械刺激反应、细胞对肽反应、髓系白

细胞分化调节、磷脂酰肌醇 3-激酶信号、磷脂酰肌醇介导的信号、肌醇脂介导的信号、肌肉拉伸反应等系列生物过程。CC 主要涉及磷脂酰肌醇 3-激酶复合体、转移酶复合体、转移含磷基团、膜外成分、核周内质网、细胞前缘、细胞-细胞连接等系列细胞组分。MF 主要涉及胰岛素受体底物结合、激酶调节活性、细胞因子受体结合、1-磷脂酰肌醇-3-激酶活性、磷脂酰肌醇-3-激酶调节亚基结合、磷脂酰肌醇-二磷酸激酶活性、凋亡信号通路中涉及的半胱氨酸型内肽酶活性、神经营养因子受体结合、磷脂酰肌醇 3-激酶活性等系列分子功能。KEGG 富集通路分析后有 126 条,其中包括 Toll 样受体信号通路、HIF-1 信号通路、肝炎信号通路、流感 A 信号通路、人类免疫缺陷病毒 1 型感染信号通路、脂质与动脉粥样硬化信号通路、PD-L1 表达与 PD-1 免疫检查点信号通路、C 型凝集素受体信号通路、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、细胞凋亡信号通路等关键信号通路等。此外,通过 Cytoscape 软件绘制出枸杞红素-青光眼-靶点-基因本体 BP-CC-MF-通路可视化图形(见图 5)。

4 讨论

青光眼是常见退行性视神经疾病之一,同时也是不可逆失明的危险原因之一^[12]。据估计^[13],全球 40~80 岁人群青光眼患病率为 3.5%。然而随着老年人在人口中的数量和比例不断增加,预计到 2040 年将会有 1.118 亿人口患有青光眼。目前可用的治疗方法不能逆转青光眼对视觉系统的损害,但是早期诊断和有效治疗可以防止疾病的恶化^[14]。在现代眼科检测技术的帮助下,中药逐渐成为眼科领域的重要内容,其中具有靶点多、毒性低的优点^[15]。传统中医学和现代医学

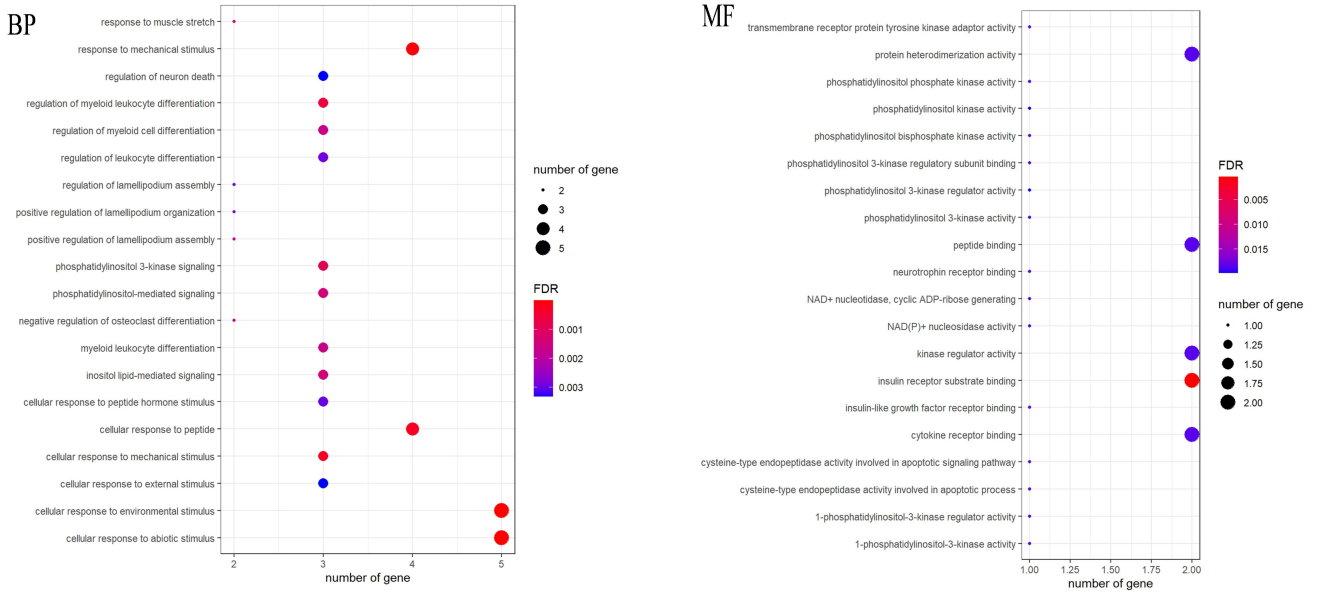


图 3 GO 富集分析结果

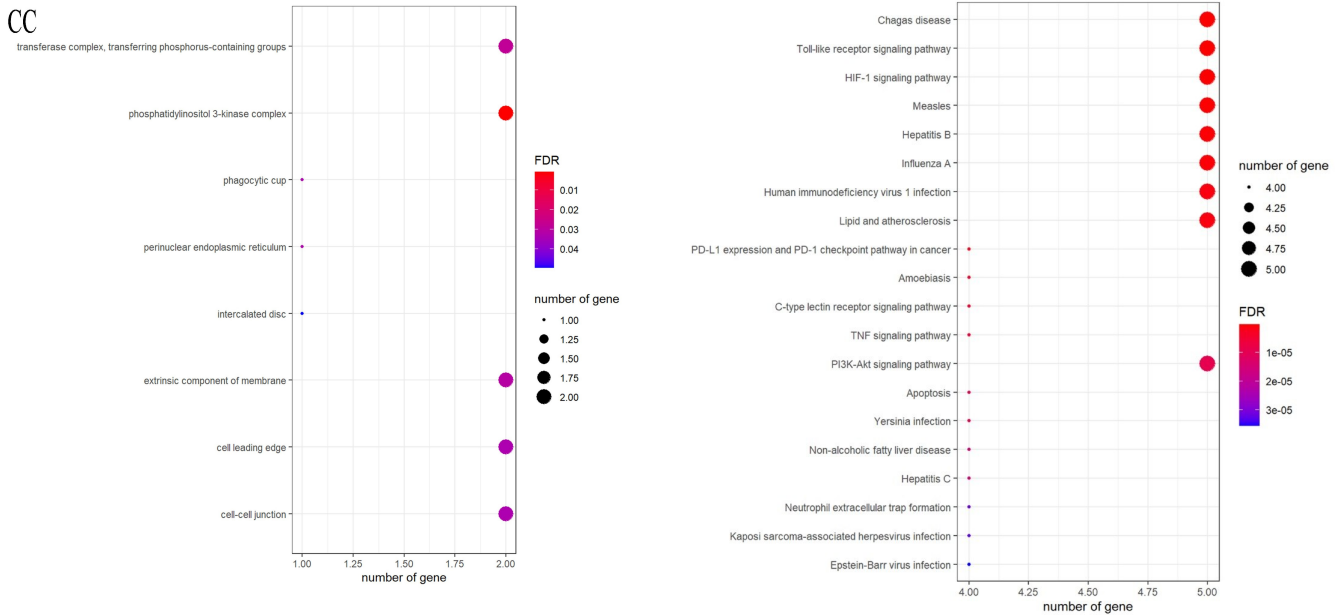


图 4 KEGG 富集分析结果

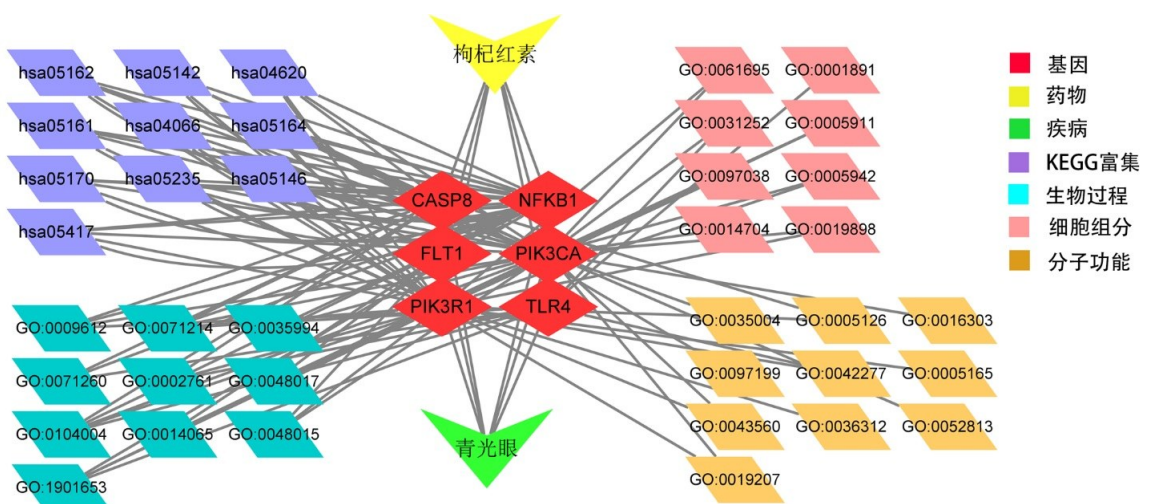


图 5 汇集生物信息学分析结果

研究显示,枸杞可治疗眼科疾病,包括黄斑变性、老年性白内障、糖尿病性视网膜病变、视网膜色素变性、青光眼等^[16]。枸杞红素是枸杞活性成分之一,具有细胞保护活性^[17]。本项目采用网络药理学等生物信息学分析策略成功筛选出枸杞红素、青光眼潜在靶点及共有靶点,进一步分析确定了所有核心靶点包括 PIK3R1、NFKB1、TLR4、PIK3CA、CASP8、FLT1。核心靶点分析结果表明枸杞红素抗青光眼药理活性可能与通过调控这些核心靶点有关,提示枸杞红素通过多靶点调控进而发挥治疗青光眼的潜在作用。GO 富集分析结果显示,枸杞红素抗青光眼作用可能与调控眼组织细胞因子活性,内环境稳态及激活神经修复因子/受体活性进而促进神经细胞增殖或修复有关。KEGG 富集分析结果显示,枸杞红素抗青光眼分子机制可能与抗炎反应、氧化损伤、细胞凋亡及增强免疫调控等信号通路有关。研究显示,神经再生是抗青光眼的治疗策略之一,其不仅可以针对最初的损伤,还可以预防或延迟继发性神经退行性变^[18]。针对视网膜神经节细胞退行性变的相关因素的保护治疗受到越来越多的关注。临床实验表明,神经生长因子对治疗包括青光眼在内的常见眼部疾病有效^[19]。近年来的研究表明,细胞死亡参与了青光眼的病理生理过程。细胞死亡在青光眼中的作用是复杂的,抑制视网膜神经节细胞死亡是抗青光眼恶化的有效策略之一^[20]。在包括青光眼在内的许多神经退行性疾病中,氧化应激被认为是细胞死亡的重要机制之一。氧化应激与内质网应激协同作用,导致青光眼对小梁网、视网膜神经节细胞和视神经头的损伤^[21-22]。因此,抑制氧化应激发展是抗青光眼有效方法之一。

综上所述,当前生物信息学分析结果表明枸杞红素可能是抗青光眼潜在活性成分,其特点是多靶点和多通路共同作用发挥抗青光眼活性。此外,当前网络药理学预测分析结果急需开展进一步的实验性研究,进而为枸杞红素临床抗青光提供科学的理论基础。现代青光眼新手术方式,如选择性激光小梁成形术(selective laser trabeculoplasty, SLT),已经开始在国内普及应用治疗青光眼,并取得较好的临床效果^[23]。此外,与常规的氩激光小梁成形术(argon laser trabeculoplasty, ALT)相比,SLT 有了更好的改进,如使用较少的激光能量(1%),减少前段炎症的数量,并最大限度地降低小梁网的机械损伤程度等^[24]。然而,现实就诊的部分青光眼患者由于某些原因害怕对眼睛进行激光疗法,并希望能选择对心理阴影更小的治疗方法。因此,枸杞红素可以作为较好的替代治疗选择,甚至可作为辅助疗法,在一定程度上增加部分青光眼患者的治疗依从性。

参考文献:

- [1] KANG J M, TANNA A P. Glaucoma[J]. Med Clin North Am, 2021, 105(3): 493-510.
- [2] WEINREB R N, AUNG T, MEDEIROS F A. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review[J]. JAMA, 2014, 311(18): 1901-1911.
- [3] YANG Y T, SUN X H. Retinal ganglion cell death in glaucoma: advances and caveats[J]. Curr Eye Res, 2023, 48(1): 1-10.
- [4] DETWILER P B. Phototransduction in retinal ganglion cells[J]. Yale J Biol Med, 2018, 91(1): 49-52.
- [5] LEE D A, HIGGINBOTHAM E J. Glaucoma and its treatment: a review[J]. Am J Health Syst Pharm, 2005, 62(7): 691-699.
- [6] IGE M, LIU J. Herbal medicines in glaucoma treatment [J]. Yale J Biol Med, 2020, 93(2): 347-353.
- [7] OH M R, JUNG S J, CHAE S W, et al. Lycium chinense Miller fruit extract lowers liver enzyme levels in subjects with mild hepatic dysfunction: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. Eur J Nutr, 2023, 62(3): 1415-1425.
- [8] BAHAJI AZAMI N L, SUN M Y. Zeaxanthin dipalmitate in the treatment of liver disease[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 1475163.
- [9] 肖佳, 高昊, 周正群, 等. 枸杞属中枸杞红素类成分研究进展[J]. 科学通报, 2017, 62(16): 1691-1698.
- [10] NOGALES C, MAMDOUH Z M, LIST M, et al. Network pharmacology: curing causal mechanisms instead of treating symptoms[J]. Trends Pharmacol Sci, 2022, 43(2): 136-150.
- [11] HUANG C, ZHAN L. Network pharmacology identifies therapeutic targets and the mechanisms of glutathione action in ferroptosis occurring in oral cancer[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 851540.
- [12] SCHUSTER A K, ERB C, HOFFMANN E M, et al. The diagnosis and treatment of glaucoma[J]. Dtsch Arztebl Int, 2020, 117(13): 225-234.
- [13] KANG J M, TANNA A P. Glaucoma[J]. Med Clin North Am, 2021, 105(3): 493-510.
- [14] ERB C. New therapeutic concepts in glaucoma treatment [J]. Ophthalmologie, 2021, 118(5): 429-430.
- [15] QI S M, ZHANG J T, ZHU H Y, et al. Review on potential effects of traditional Chinese medicine on glaucoma [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 304: 116063.
- [16] 廖林丽, 杨成昊, 杨毅敬, 等. 枸杞子在眼病临床运用进展[J]. 陕西中医药大学学报, 2022, 45(2): 137-140.
- [17] 肖佳, 苏国辉, 高昊, 等. 枸杞红素的用途: CN106580946B [P]. 2019-04-26.

(下转第 612 页)

捷的路径,具有临床应用价值。

参考文献:

- [1] 窦丽,刘奋琴.二胎高龄孕妇焦虑和抑郁状态的影响因素及应对措施[J].中国妇幼保健,2018,33(23):5431-5432.
- [2] CLOSA-MONASTEROLO R, GISPERT-LLAURADO M, CANALS J, et al. The effect of postpartum depression and current mental health problems of the mother on child behaviour at eight years [J]. *Matern Child Health J*, 2017, 21(7):1563-1572.
- [3] LEE D T, YIP S K, CHIU H F, et al. Detecting postnatal depression in Chinese women, validation of the Chinese version of the Edinburgh Postnatal Depression Scale [J]. *Br J Psychiatry*, 1998, 172:433-437.
- [4] 陈子江.“二孩”生育政策后再生育的临床思考[J].山东大学学报(医学版),2017,55(1):1-4.
- [5] 金文岚,陈志青,许国勤.“二胎”产妇产后抑郁影响因素及列线图预测模型构建[J].中国优生与遗传杂志,2022,30(9):1619-1624.
- [6] 李慧,陈丽,柳秋实,等.二胎产妇产后抑郁现状及影响因素分析[J].中国妇幼保健,2022,37(15):2715-2719.
- [7] FIOM J D, CHIU Y H M, TAMAYO-ORTIZ M, et al. Subconstructs of the Edinburgh Postpartum Depression Scale in a postpartum sample in Mexico city [J]. *J Affect Disord*, 2018, 238:142-146.
- [8] 安力彬,陆虹.妇产科学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2017:258-259.
- [9] 杭春梅,黄锟,孙瑜,等.产妇4027例重度产后抑郁检出情况分析[J].安徽医药,2020,24(7):1329-1333.
- [10] 张颖,杜玉开.765例生育二胎妇女产后抑郁发生情况及其影响因素研究[J].安徽预防医学杂志,2021,27(6):470-473,500.
- [11] 毛新敏,热孜万古力·热西提,程建云.二胎妊娠产后抑郁风险与家庭支持影响因素的分析[J].新疆医科大学学报,2020,43(8):1118-1121.
- [12] 林央央,曹晓丹.二胎产妇产后焦虑和抑郁状况及影响因素分析[J].中国妇幼保健,2021,36(12):2860-2862.
- [13] 周桂兰,谭红彤,陈晓雯,等.二胎政策后产后抑郁症状现状及其相关影响因素分析[J].中国医学创新,2021,18(24):178-181.
- [14] 聂慧瑶.北京市方庄地区二孩产妇产后抑郁现状及影响因素分析[J].名医,2020(5):78.
- [15] 胡绣华,鲁娟.二胎产妇产后初期社会支持及抑郁状况[J].中国健康心理学杂志,2019,27(8):1191-1194.
- [16] 赵凌皓,陆虹,刘霞,等.二胎产妇及其配偶产后抑郁现状及相关因素研究[J].护理管理杂志,2022,22(8):607-612.
- [17] 曾小华,刘喻,徐宝华,等.东莞外来女性产后抑郁症的影响因素分析[J].广东医科大学学报,2019,37(6):654-657.
- [18] 胡衢芬,蒋娜,李瑶,等.二孩产妇产后抑郁现状及影响因素分析[J].邵阳学院学报(自然科学版),2019,16(5):17-25.
- [19] 陈宁静,陈春榕,刘江英.Logistic回归及决策树模型在高龄剖宫产妇产后出血影响因素分析中的应用[J].右江民族医学院学报,2020,42(6):754-758.
- [20] 王小宁,刘擷芯,黄俊文,等.译.ROBERT I. KABA-COFF. R语言实战[M].2版.北京:人民邮电出版社,2016:364.
- 收稿日期:2023-03-29;修回日期:2023-04-29
- (上接第606页)
- [18] DAHLMANN-NOOR A H, VIJAY S, LIMB G A, et al. Strategies for optic nerve rescue and regeneration in glaucoma and other optic neuropathies [J]. *Drug Discov Today*, 2010, 15(7-8):287-299.
- [19] WANG H T, WANG R K, THRIMAWITHANA T, et al. The nerve growth factor signaling and its potential as therapeutic target for glaucoma [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:759473.
- [20] WANG Y, HUANG C, ZHANG H, et al. Autophagy in glaucoma: Crosstalk with apoptosis and its implications [J]. *Brain Res Bull*, 2015, 117:1-9.
- [21] FAN GASKIN J C, SHAH M H, CHAN E C. Oxidative stress and the role of nadph oxidase in glaucoma [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(2):238.
- [22] HURLEY D J, NORMILE C, IRNATEN M, et al. The intertwined roles of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in glaucoma [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(5):886.
- [23] 师宜鹏,孙文英,谢立科,等.选择性激光小梁成形术的研究进展[J].中华眼科医学杂志(电子版),2022,12(4):237-241.
- [24] LANDERS J. Selective laser trabeculoplasty: a review [J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2021, 49(9):1102-1110.
- 收稿日期:2023-02-04;修回日期:2023-04-15