

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2024.03.012

· 网络药理学 ·

# 小檗碱逆转胰岛 $\beta$ 细胞去分化机制网络药理学研究

马钟丹妮

珠海市中西医结合医院内分泌科, 广东珠海 519000

**摘要** **目的** 基于网络药理学技术探讨小檗碱逆转胰岛  $\beta$  细胞去分化的潜在作用机制。**方法** 借助 GeneCards 数据库筛选小檗碱干预靶基因及胰岛  $\beta$  细胞去分化的相关基因, 使用 R 软件 VennDiagram 数据包进行交互分析, 利用 Cytoscape 3.6.1 软件进行小檗碱-胰岛  $\beta$  细胞去分化靶点网络构建, 建立药物-疾病共同靶点的相互作用网络, 运用 R 软件 ClueGO 插件对上述信息进行注释, 并进行 KEGG 通路富集分析。**结果** 本研究共获得小檗碱作用靶点 245 个, 其中与胰岛  $\beta$  细胞去分化相关的有 193 个, KEGG 通路富集分析显示小檗碱干预胰岛  $\beta$  细胞去分化涉及的主要信号通路有 PI3K-Akt 信号通路、FoxO 信号通路、AMPK 信号通路及 Insulin 信号通路等。**结论** 小檗碱可能通过多靶点参与胰岛  $\beta$  细胞去分化的调节, 并通过调控 FoxO、PI3K-Akt、AMPK 以及 Insulin 信号通路等途径发挥逆转胰岛  $\beta$  细胞去分化的作用。

**关键词** 小檗碱; 胰岛  $\beta$  细胞去分化; 网络药理学; 作用靶点; 信号通路

**中图分类号** R285.5 **文献标志码** A

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 是常见的慢性代谢性疾病, 其中超过 90% 为 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM)。T2DM 及其伴发的各系统相关并发症具有较高的死亡率和致残率, 给人类健康造成极大威胁。因此, 如何治疗和预防 DM 成为世界各医疗团队的研究重点。美国哥伦比亚大学的 Accili 团队率先在动物实验中提出胰岛  $\beta$  细胞功能衰退与胰岛  $\beta$  细胞的“去分化 (dedifferentiation)”密切相关<sup>[1]</sup>。后来该团队又在 T2DM 患者中证实胰岛  $\beta$  细胞存在同样的去分化现象, 相关分析还发现, 葡萄糖诱导的胰岛素分泌功能与去分化评分 (去分化细胞/总内分泌细胞之比) 之间呈负相关, 提示随着胰岛  $\beta$  细胞去分化程度的升高, 胰岛素分泌功能呈现下降趋势<sup>[2]</sup>。因此, 我们有理由相信胰岛  $\beta$  细胞去分化程度与 T2DM 呈正相关。小檗碱 (berberine, BBR) 又称为黄连素, 化学式为  $C_{20}H_{18}NO_4$ , 最初是从中药黄连中分离出来的一种异喹啉生物碱<sup>[3]</sup>。研究显示, 小檗碱具有显著的降血糖、调脂、降血压、保护心肌、抗炎等生物学作用<sup>[4-5]</sup>, 但其对胰岛  $\beta$  细胞去分化的作用机制仍有待进一步研究。网络药理学是基于系统生物学的理论对生物系统进行网络分析, 并选取特定的信号节点进行多靶点药物分子设计的新学科。基于以上内容, 本研究运用网络药理学及生物信息学的研究方法, 通过网络公共数据库检索小檗碱的治疗靶点, 结合胰岛  $\beta$  细

胞去分化的基因网络, 构建小檗碱逆转胰岛  $\beta$  细胞去分化的相关靶点交互作用网络, 富集其干预胰岛  $\beta$  细胞去分化的相应信号通路, 预测其治疗胰岛  $\beta$  细胞去分化的潜在靶点, 旨在为小檗碱逆转胰岛  $\beta$  细胞去分化的机制研究提供思路。

## 1 资料与方法

### 1.1 数据来源

使用 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 数据库对小檗碱治疗作用相关的靶基因名称进行检索, 筛选与小檗碱治疗作用相关的靶基因名称并进行注释。

### 1.2 胰岛 $\beta$ 细胞去分化相关基因的收集

以 “Islet of pancreas  $\beta$ -cell dedifferentiation” 为关键词, 通过 GeneCards、OMIM (<https://omim.org/>) 数据库进行检索, 筛选其相关的基因, 去除重复检索的基因, 作为胰岛  $\beta$  细胞去分化的候选靶点基因。

### 1.3 药物-疾病共同靶点网络构建与通路富集分析

使用 R 软件 VennDiagram 数据包, 导入小檗碱作用靶点及胰岛  $\beta$  细胞去分化靶点基因数据集, 进行交互作用分析, 使用 Perl 软件对得到的共有靶点进行注释, 使用 Cytoscape 3.6.1 软件进行小檗碱-胰岛  $\beta$  细胞去分化靶点网络构建, 建立药物-疾病共同靶点的相互作用网络, 利用 Cytoscape 3.6.1 软件中的 Clue

GO 插件对预测出的小檗碱治疗胰岛 β 细胞去分化的靶基因进行 KEGG 通路富集分析。

## 2 结果

### 2.1 小檗碱中有效化学成分作用靶点及胰岛 β 细胞去分化相关基因预测及交集

去除重复的有效化学成分及无对应靶点的化学成分,得到小檗碱相关作用靶点 245 个;筛选去除重复基因,共得到 4896 个与胰岛 β 细胞去分化相关的靶点基因;其中小檗碱与胰岛 β 细胞去分化的共同靶点有 193 个。见图 1、表 1。

### 2.2 小檗碱-胰岛 β 细胞去分化药效作用靶点之间的相互作用网络

建立药效作用靶点的相互作用网络,发现小檗碱-胰岛 β 细胞去分化靶点的相互作用关系呈复杂样网络分布,存在多靶点关联性。见图 2。

### 2.3 KEGG 通路富集分析

KEGG 通路富集分析共得到 20 条相关通路,结合文献检索及分析,筛选出 FoxO 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、AMPK 信号通路、Insulin 信号通路这 4 条通路与小檗碱调控 β 细胞去分化密切相关。结果见表 2、图 3。

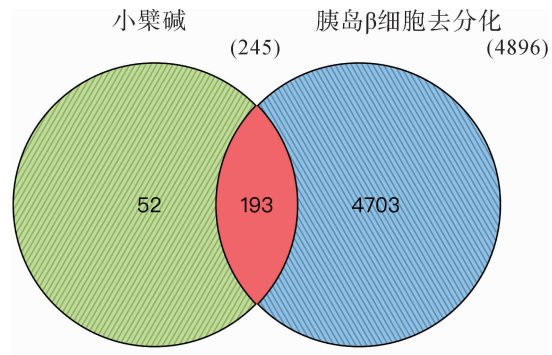


图 1 小檗碱与胰岛 β 细胞去分化共同靶点交集

表 1 小檗碱与胰岛 β 细胞去分化共同靶点

名称	共同靶点
小檗碱-胰岛 β 细胞去分化	ABCA1; ABCB1; ABCC1; ABCC8; ABCG2; ACHE; ADRA2B; AEBP1; AHR; AKR1A1; AKR1B1; AKT1; ANXA5; APP; AR; ATF3; ATF6; ATP2A2; BACE1; BAX; BCHE; BCL2; BCL2L1; BCL2L2; BGLAP; BID; BIRC2; BIRC3; BIRC5; BSG; CACNA1C; CAMKK2; CASP1; CASP3; CASP8; CASP9; CAT; CBL; CCL19; CCL2; CCNB1; CCND1; CD2; CD4; CD44; CD69; CD9; CDC42; CDK1; CDK2; CDK4; CDK6; CDKN1A; CDKN2B; CFLAR; CHRM3; COX5A; CRHR1; CSN1S1; CTNNB1; CXCL12; CXCL8; CYBB; CYCS; CYP1A1; CYP1A2; CYP2D6; CYP3A4; DAXX; DDIT3; DNASE1; DPP4; DRD1; EGFR; EGR1; ENDOG; EP300; EXOC7; F2; F3; FAS; FASN; FFAR1; FKBP1B; FN1; FOS; FOXO3; GSK; GSKR; GDF15; GLUD1; HDAC1; HDC; HIF1A; HNF1A; HNF4A; HNRNP; HSPA5; HSPG2; HTR3A; HTR6; HYOU1; ID1; IKBKB; IL1B; IL2RA; IL6; INS; INSR; IRS1; ITGAL; JUN; KCNH2; KCNQ1; KDR; KHSRP; KIT; KITLG; LDLR; LEP; LIPE; LPL; LSR; MAP3K5; MAPK1; MAPK10; MAPK14; MAPK8; MCL1; MDH2; MIR21; MIR93; MMP2; MMP9; MT-CO2; MTOR; MYC; NDUFS4; NFKB1; NFKBIA; NME1; NOS2; NOS3; NPY; NQO1; NR3C1; NTS; OLR1; P2RX7; PARP1; PCSK9; PIK3CA; PKD1; PLAU; PLCB1; PLCB3; PLCG1; PPARG; PPIF; PRKAA1; PRKAA2; PRKAB1; PRKCD; PTEN; PTGS2; PTPN1; PTPRC; RAC1; RAD51; RELA; SETD7; SIRT1; SIRT3; SLC2A1; SLC2A4; SMAD1; SMURF1; SOD1; SPP1; SREBF1; STAT3; STK11; TGFB1; TH; TIMP2; TLR4; TNF; TP53; VCAM1; VEGFA; WEE1; XDH; XIAP

表 2 Cytoscape 基因互作网络分析结果

名称	数量	P 值
Pathways in cancer	42	>0.05
FoxO signaling pathway	30	<0.05
PI3K-Akt signaling pathway	38	<0.05
Hepatitis B	26	>0.05
Pancreatic cancer	20	>0.05
Insulin resistance	22	>0.05
AMPK signaling pathway	22	<0.05
Non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD)	23	>0.05
HIF-1 signaling pathway	19	>0.05
Insulin signaling pathway	21	<0.05

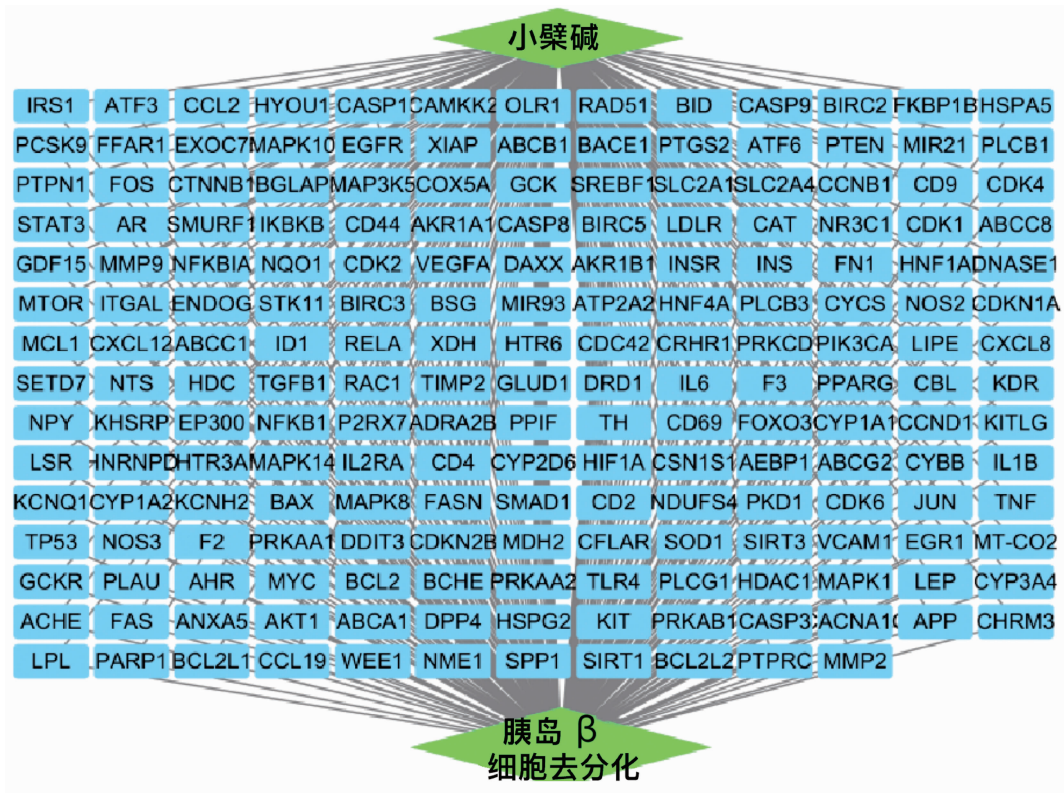
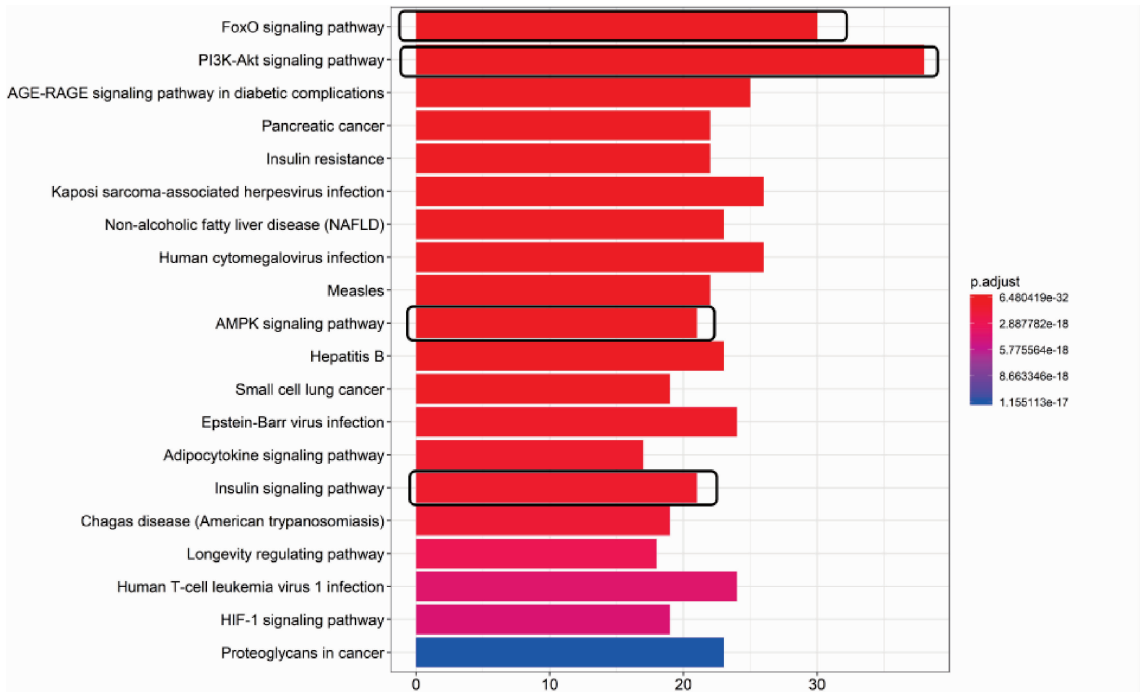


图 2 小檗碱-胰岛β细胞去分化共同靶点的网络图



横轴为该通路的差异基因个数,纵轴为富集到的通路描述信息。图中颜色对应 p.adjust 值(P 值校正),从小到大,对应从上到下。

图 3 KEGG 通路富集分析结果

### 3 讨论

小檗碱是传统中药黄连的主要药效成分。有研究<sup>[6]</sup>表明,小檗碱可显著降低糖尿病模型大鼠的血糖

以及糖化血红蛋白水平,刺激机体胰岛素分泌并改善胰岛素抵抗,同时抑制心肌组织中促炎症和促凋亡蛋白的表达。在糖尿病神经病变大鼠模型中,小檗碱通过调节线粒体合成及自噬等机制增加神经传导速度、

改善神经的血液供应、降低痛觉过敏,抑制神经损害及炎症反应<sup>[7]</sup>。另有分析报道,小檗碱能够在显著降低糖尿病患者糖化血红蛋白、空腹及餐后血糖水平的情况下还具有较好的安全性<sup>[8]</sup>。因此,小檗碱在临床上被视为治疗 T2DM 及其相关并发症的重要药物。目前小檗碱被广泛用于 T2DM 的辅助治疗,进一步阐明其作用机制对于小檗碱的临床应用及进一步开发具有重要意义。

胰岛  $\beta$  细胞“去分化”指的是已经完成分化或部分分化的正常胰岛  $\beta$  细胞丧失了其独特的结构和功能,转化为具有多种分化潜能的内分泌前体细胞,或者分化成胰腺  $\alpha$ 、 $\delta$  和 PP 细胞,从而损失了部分或全部胰岛素分泌的功能。本研究使用 GeneCards 数据库筛选得到小檗碱作用靶点及胰岛  $\beta$  细胞去分化相关基因,并使用 Cytoscape 3.6.1 软件等构建小檗碱-胰岛  $\beta$  细胞去分化交互网络,并进行 KEGG 通路富集分析。结果表明,FoxO 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、AMPK 信号通路和胰岛素信号通路等信号通路可能是小檗碱治疗胰岛  $\beta$  细胞去分化的潜在分子通路。胰岛  $\beta$  细胞的分化和去分化过程是由多个特定的基因簇/效应蛋白的激活/抑制以及多种信号通路协调完成的。去分化的  $\beta$  细胞中内分泌祖细胞如神经生成素 3(neurogenin 3, Ngn3)、Octamer 结合转录因子 4(octamer-binding transcription factor 4, Oct-4)、尿皮质素 3(urocotin 3, Ucn3)和 Nanog 在细胞中标记基因表达增加,而肌腱膜纤维肉瘤癌基因 A 型同系物基因(*Mafa*)、胰十二指肠同源盒 1(*pdx-1*)、NK6 同源框蛋白 1(NK6 homeobox 1, *Nkx6.1*)和其他  $\beta$  细胞标记基因表达降低<sup>[9-10]</sup>。研究表明,成熟的胰岛  $\beta$  细胞具有一定的可塑性。选择性改变基因表达的水平可以改变成熟的  $\beta$  细胞特性,或者可以将  $\beta$  细胞转化为具有多种分化潜能的内分泌前体细胞或其他内分泌细胞<sup>[11-12]</sup>。其中, $\beta$  细胞中的叉头框蛋白 O1(FoxO1)含量丰富,且 FoxO1 是维持  $\beta$  细胞表型和功能的重要转录因子<sup>[13]</sup>。Talchai 等<sup>[14]</sup>发现从 FoxO1 基因中剔除的胰腺  $\beta$  细胞显著增加了应激条件下内分泌祖细胞基因的表达,但不再表达胰腺  $\beta$  细胞的标记基因。研究表明,Wnt 途径的活性是正常胰腺发育所必需的<sup>[15]</sup>,Wnt 途径的激活可诱导小鼠胰岛细胞的增殖<sup>[16]</sup>。另外通过抑制糖原合成酶激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )激活 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路和经典的 Wnt/ $\beta$ -catenin/TCF 信号传导途径可以诱导人胰岛细胞在体外增殖<sup>[17-18]</sup>。最近研究发现胰高血糖素样肽 1(glucagon-like peptide 1, GLP-1)可

通过 hedgehog-cAMP-PI3K 信号通路和上调 Pdx-1 的表达水平使胚胎干细胞分化为具有分泌胰岛素功能的  $\beta$  细胞<sup>[19]</sup>。同时,已有研究证实 GLP-1 可以促进  $\beta$  细胞的增殖,抑制  $\beta$  细胞的凋亡,促进胰岛素的合成和释放,并促进细胞分化<sup>[20]</sup>。结合本研究结果,推测小檗碱可能通过 FoxO 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、AMPK 信号通路、Insulin 信号通路等通路参与小檗碱调控  $\beta$  细胞去分化,从而起到治疗 T2DM 的作用。

本研究基于网络药理学探究小檗碱逆转胰岛  $\beta$  细胞去分化的潜在作用靶点及作用机制,为小檗碱逆转胰岛  $\beta$  细胞去分化的机制研究提供了研究思路。同时本文筛选出的小檗碱相关作用靶点和抗胰岛  $\beta$  细胞去分化的靶点和通路,为胰岛  $\beta$  细胞去分化的新药研究和临床治疗提供参考。

## 参 考 文 献

- [1] Rubin de Celis MF, Garcia-Martin R, Syed I, et al. PAH-SAs reduce cellular senescence and protect pancreatic beta cells from metabolic stress through regulation of Mdm2/p53 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(47):e2206923119.
- [2] Briant LJB, Reinbothe TM, Spiliotis I, et al.  $\delta$ -cells and  $\beta$ -cells are electrically coupled and regulate  $\alpha$ -cell activity via somatostatin[J]. *J Physiol*, 2018, 596(2):197-215.
- [3] Zhou S, Allard PM, Wolfrum C, et al. Identification of chemotypes in bitter melon by metabolomics: a plant with potential benefit for management of diabetes in traditional Chinese medicine[J]. *Metabolomics*, 2019, 15(8):104.
- [4] Sun H, Liu Q, Hu H, et al. Berberine ameliorates blockade of autophagic flux in the liver by regulating cholesterol metabolism and inhibiting COX2-prostaglandin synthesis[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(8):824.
- [5] Wang K, Feng X, Chai L, et al. The metabolism of berberine and its contribution to the pharmacological effects[J]. *Drug Metab Rev*, 2017, 49(2):139-157.
- [6] Chandrasegaran G, Elanchezhiyan C, Ghosh K, et al. Berberine chloride ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in the pancreas of Streptozotocin induced diabetic rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95:175-185.
- [7] Cui G, Wang H, Yang C, et al. Berberine prevents lethal EV71 neurological infection in newborn mice[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:1027566.
- [8] Yerra VG, Kalvala AK, Sherkhane B, et al. Adenosine monophosphate-activated protein kinase modulation by berberine attenuates mitochondrial deficits and redox imbalance in

- experimental diabetic neuropathy[J]. *Neuropharmacology*, 2018, 131:256-270.
- [9] Capozzi ME, D'Alessio DA, Campbell JE. The past, present, and future physiology and pharmacology of glucagon[J]. *Cell Metab*, 2022, 34(11):1654-1674.
- [10] Chen K, Zhang J, Huang Y, et al. Single-cell RNA-seq transcriptomic landscape of human and mouse islets and pathological alterations of diabetes[J]. *iScience*, 2022, 25(11):105366.
- [11] Hsu CC, Cheng JT, Hsu PH, et al. Bolus injection of liraglutide raises plasma glucose in normal rats by activating glucagon-like peptide 1 receptor in the brain[J]. *Pharmaceuticals(Basel)*, 2022, 15(7):904.
- [12] Aly RM, Aglan HA, Eldeen GN, et al. Efficient generation of functional pancreatic  $\beta$  cells from dental-derived stem cells via laminin-induced differentiation[J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2022, 20(1):85.
- [13] Bensellam M, Jonas JC, Laybutt DR. Mechanisms of  $\beta$ -cell dedifferentiation in diabetes; recent findings and future research directions [J]. *J Endocrinol*, 2018, 236(2):R109-R143.
- [14] Talchai C, Xuan S, Lin HV, et al. Pancreatic  $\beta$  cell dedifferentiation as a mechanism of diabetic  $\beta$  cell failure[J]. *Cell*, 2012, 150(6):1223-1234.
- [15] Li X, He J, Xie K. Molecular signaling in pancreatic ductal metaplasia; emerging biomarkers for detection and intervention of early pancreatic cancer[J]. *Cell Oncol(Dordr)*, 2022, 45(2):201-225.
- [16] Ruszała M, Pilszyk A, Niebrzydowska M, et al. Novel biomolecules in the pathogenesis of gestational diabetes mellitus 2. 0[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(8):4364.
- [17] Eguchi N, Toribio AJ, Alexander M, et al. Dysregulation of  $\beta$ -cell proliferation in diabetes; possibilities of combination therapy in the development of a comprehensive treatment[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(2):472.
- [18] Katsumoto K, Yennek S, Chen C, et al. Wnt4 is heterogeneously activated in maturing  $\beta$ -cells to control calcium signaling, metabolism and function [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1):6255.
- [19] Gherardi G, Corbioli G, Ruzza F, et al. CoQ<sub>10</sub> and resveratrol effects to ameliorate aged-related mitochondrial dysfunctions[J]. *Nutrients*, 2022, 14(20):4326.
- [20] Wang KL, Tao M, Wei TJ, et al. Pancreatic  $\beta$  cell regeneration induced by clinical and preclinical agents[J]. *World J Stem Cells*, 2021, 13(1):64-77.

(收稿日期:2024-01-11)

(上接第 194 页)

- [3] 黄冠群, 韩丁丁, 仇慎峰, 等. 孤独症谱系障碍发病机制的研究进展[J]. *中国实用儿科杂志*, 2019, 34(8):622-628.
- [4] 姚雪春, 李亚平, 李征, 等. 中医治疗儿童孤独症谱系障碍研究进展[J]. *河南中医*, 2023, 43(2):299-303.
- [5] 周荣易, 马丙祥, 周正, 等. 从心脾论治孤独症谱系障碍中医机制探析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(22):208-214.
- [6] 中华医学会儿科学分会发育行为学组, 中国医师协会儿科分会儿童保健专业委员会, 儿童孤独症诊断与防治技术和标准研究项目专家组. 孤独症谱系障碍儿童早期识别筛查和早期干预专家共识[J]. *中华儿科杂志*, 2017, 55(12):890-897.
- [7] 赵宁侠, 宋虎杰, 杜晓刚, 等. 中医儿科临床诊疗指南·孤独症谱系障碍[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(7):3231-3236.
- [8] 马俊红, 郭延庆, 贾美香, 等. 异常行为量表中文版在儿童孤独症群体中的信效度[J]. *中国心理卫生杂志*, 2011, 25(1):14-19.
- [9] 卢建平, 杨志伟, 舒明耀, 等. 儿童孤独症量表评定的信度、效度分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2004, 14(13):119-121, 123.
- [10] 耿立蒙, 刘聪聪, 李玲, 等. 运用心理教育量表(第 3 版)评估孤独症谱系障碍儿童心理行为特征[J]. *中国康复理论与实践*, 2023, 29(9):1035-1039.
- [11] 崔立华, 杜文冉, 杨笑, 等. 唐山市 2~5 岁孤独症谱系障碍儿童体格发育及健康状况分析[J]. *中华疾病控制杂志*, 2022, 26(9):1102-1107.
- [12] 孙丽娟, 朱怡霏. 社会支持对孤独症谱系障碍群体生活质量的影响[J]. *重庆大学学报(社会科学版)*, 2020, 26(3):227-238.
- [13] 毛文琴. 综合干预训练对孤独症谱系障碍儿童康复疗效观察[J]. *中国听力语言康复科学杂志*, 2023, 21(s1):72-73, 109.
- [14] 刘盼, 金瑄, 赵宁侠, 等. 刘晓萍对孤独症谱系障碍中医病因病机的认识[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(4):1999-2001.
- [15] 李瑞盈, 鄢明辉, 游春苹. 脑-肠轴与精神疾病肠道微生物的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(18):427-43.

(收稿日期:2024-03-24)