

基于系统药理学探讨辣椒素潜在作用靶点的研究

张莉华¹, 肖尚月¹, 陈少军^{2*}

(1. 浙江医药高等专科学校食品学院, 浙江宁波 315500; 2. 浙江医药高等专科学校中药学院, 浙江宁波 315500)

摘要 [目的] 系统性探讨辣椒素的潜在靶点及其作用。[方法] 以系统药理学方法为手段, 首先用不同的计算机靶点预测方法预测辣椒素的潜在靶点, 接着用 GeneMANIA 进行基因富集分析, 然后借助 DAVID 数据库对预测靶蛋白进行基因本体 GO 富集分析和疾病富集分析, 并利用 Cytoscape 3.4 软件构建辣椒素潜在的作用网络。[结果] 辣椒素可作用于 25 个潜在靶蛋白; 它们的相互作用主要是通过预测、蛋白共表达、物理相关性、共享蛋白域和共定位等表现出来; GO 分析有 11 个条目; 疾病富集发现辣椒素与肿瘤、药物超敏、代谢病和炎症等多种疾病密切相关; 构建了构建“辣椒素-靶点-疾病”网络。[结论] 辣椒素是通过多靶点作用于多种疾病的, 该研究为其食用安全性和功能性评价提供了理论依据。

关键词 辣椒素; 系统药理学; 靶蛋白

中图分类号 R 96 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)22-0161-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.22.042

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Potential Targets of Capsaicin Based on System Pharmacology

ZHANG Li-hua¹, XIAO Shang-yue¹, CHEN Shao-jun² (1. Faculty of Food Science, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo, Zhejiang 315500; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo, Zhejiang 315500)

Abstract [Objective] To investigate the potential targets and their functions of capsaicin. [Method] In this study, firstly, the potential targets of capsaicin were predicted by different computer target prediction methods. Then, for all predicted targets, gene enrichment was analyzed by GeneMANIA, and then the gene ontology (GO) enrichment and disease enrichment were analyzed by DAVID database. At last, the potential action network of capsaicin was constructed by Cytoscape 3.4. [Result] It was found that capsaicin can act on 25 potential target proteins. Their interactions of target proteins were mainly manifested by prediction, co-expression, physical interactions, shared protein domains and co-localization. GO analysis had 11 items. Disease enrichment showed that capsaicin is closely related to various diseases such as tumors, drug hypersensitivity, metabolic diseases and inflammation. [Conclusion] Capsaicin is a multi-targeted agent on a variety of complex diseases, this study provided a theoretical basis for its food safety and functional evaluation.

Key words Capsaicin; System pharmacology; Target protein

辣椒素是辣椒主要的辛辣成分。它的生理活性广泛, 具有抗癌、消炎镇痛以及保护心血管和消化系统等药理作用, 同时也有致炎、去神经、致组织坏死、溃疡和致癌等副作用^[1-2]。辣椒素通过特异性的辣椒素受体(也称瞬间感受器电位香草酸受体 transient receptor potential vanilloid 1, TRPV1)发挥着多种生物学功能^[2]。除了公认靶蛋白 TRPV1 之外, 辣椒素还可能作用其他多种靶蛋白发挥多种生物学功能^[2]。系统性探讨辣椒素的潜在靶蛋白和作用有助于了解不良反应的发生, 也有利于辣椒食用安全性和功能性的研究。

“药食同源”理论源于中医药理念, 是我国劳动人民在食物和药物发现过程中总结的智慧结晶, 体现了食物在保健和治疗方面的功能^[3]。目前国际上芳兴未艾的功能食品研究与开发就是这一理念的延伸和应用。而系统药理学是从系统水平研究药物与机体相互作用及其规律和作用机制的一门新兴学科^[4]。系统药理学为复杂作用机制的研究提供了新的思路和视角, 为辣椒素的食用安全性和功能性的系统性研究提供了科学手段。

该研究以辣椒素为对象, 以系统药理学方法为手段, 采用靶点预测、基因富集分析和网络构建等方法快速预测辣椒

素潜在的作用靶点和构建作用网络, 系统性阐明辣椒素潜在的作用分子机理, 以期为其食用安全性和功能性评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 化学相似性方法预测 SEA (similarity ensemble approach) (<http://sea.bkslab.org/>) 是基于化学相似性原理来搜索关联蛋白质的一种靶点预测方法^[5]。首先从 pubmed 数据库中拷贝辣椒素化学结构 Canonical SMILES 文件, 并将其上传到 SEA 服务器搜索栏, 参数采用默认。

1.2 化学-蛋白相互作用组学 CPI 预测 SePres-CPI 是一以化学-蛋白相互作用组学为方法学的小分子化合物潜在不良作用的在线服务器 (<http://cpi.bio-x.cn/sepresa/>)^[6]。试验步骤按照 CPI 指南进行, 过程简单介绍如下: 将辣椒素 (capsaicin) 的 SMILE 文件复制到 Corina 服务器转化成 PDB 格式, 并用 Vega ZZ 软件加电荷后保存 mol 格式备用。将辣椒素结构文件以 mol2 格式分别上传到 SePres 服务器, 参数采用默认。CPI 试验结束后, 将获得的数据以 $Z' \leq -0.05$ 为条件进行筛选。

为了保证全面性, 汇总 2 种方法学获得试验结果, 将预测出的蛋白作为潜在作用靶蛋白, 并做下一步的研究。

1.3 蛋白质相互作用网络 GeneMANIA 分析 GeneMANIA (<http://genemania.org/>) 是一种能快速预测蛋白功能的工具, 能够通过集成多种基因组及蛋白质数据来推断未知功能的蛋白^[7]。该数据库可基于共表达 (co-expression)、共定位

基金项目 浙江省自然科学基金项目 (LY18H280010); 浙江省医药卫生科技计划 (2019KY636); 宁波市科技项目 (2019C50061); 浙江医药高等专科学校资助课题 (2019008)。

作者简介 张莉华 (1976—), 女, 吉林公主岭人, 副教授, 硕士, 从事功能食品开发应用研究。* 通信作者, 副教授, 博士, 从事药物生物信息学研究。

收稿日期 2020-04-14

(co-localization)、蛋白和基因的相互作用 (protein and gene interactions) 等对基因集进行分析和预测,显示这些基因的分子网络图^[7]。试验过程中,将筛选得到靶蛋白的 UniProKB 的名称输入到 GeneMANIA 服务器,种属选择 Homo sapiens,其他参数默认。

1.4 基因本体论分析和网络构建 大规模基因的功能注释经常用到基因本体 (gene ontology, GO) 分析。它包含分子功能、生物过程和细胞组成 3 个部分^[8]。DAVID bioinformatics resources 6.8 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 是一个集基因注释、可视化和综合挖掘功能的数据平台,为研究人员提供一套全面的功能注释工具,用于理解基因的生物学意义^[9]。按照操作指南,将预测的靶蛋白上传到 DAVID 数据库,利用其功能注释工具 (functional annotation tool) 分别进行 GO 富集分析。

为了研究辣椒素与潜在疾病之间的相互关系,利用 DAVID 数据库的功能注释工具 (functional annotation tool) 分别进行疾病富集分析。用 Cytoscape 3.4 软件构建“成分-靶点-疾病”网络模型,将辣椒素与靶点、疾病之间的相互关系映射到网络中。节点 (node) 表示成分、潜在作用靶点及作用通路;边 (edge) 用于连接成分与靶点,同时也用来连接靶点与通路。

2 结果与分析

2.1 化学相似性方法预测 SEA 靶点预测方法预测出辣椒素的作用靶蛋白有 13 个 (表 1),排在第一位是辣椒素特异性受体 TRPV1。这说明 SEA 预测方法有很强的可靠性,试验结果也具有较高可信性。细胞色素 CPY3A4、CPY2C9 和 CPY2C19 分别排在 2~4 位。

表 1 SEA 预测的辣椒素潜在靶蛋白
Table 1 Potential target protein of capsaicin by SEA

排序 Rank	蛋白简称 Target name	蛋白名称 Protein name	P
1	TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1	1.05E-20
2	CYP3A4	Cytochrome P450 3A4	1.88E-05
3	CYP2C9	Cytochrome P450 2C9	0.000 753 5
4	CYP2C19	Cytochrome P450 2C19	0.016 08
5	PTGS1	Prostaglandin G/H synthase 1	0.021 92
6	LPAR3	Lysophosphatidic acid receptor 3	3.38E-32
7	MDH1	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	1.73E-28
8	NFE2L2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2	7.34E-28
9	ADCYAP1R1	Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type I receptor	4.55E-22
10	THRA	Thyroid hormone receptor alpha	1.95E-20
11	THRB	Thyroid hormone receptor beta	5.19E-17
12	LPAR1	Lysophosphatidic acid receptor 1	5.55E-16
13	HDAC1	Histone deacetylase	7.77E-16

2.2 化学-蛋白相互作用组学 CPI 预测 CPI 方法可以预测出辣椒素的作用靶点有 12 个 (表 2)。排在前 3 位的分别是硫嘌呤甲基转移酶、谷胱甘肽还原酶和腺苷高半胱氨酸

酶。排在第 10 位的是细胞色素 CYP2D6,与表 1 排 2~4 位的 CPY3A4、CPY2C9 和 CPY2C19 同属于细胞色素 P450 超家族蛋白。这说明 2 种试验结果在一定程度上互相验证。

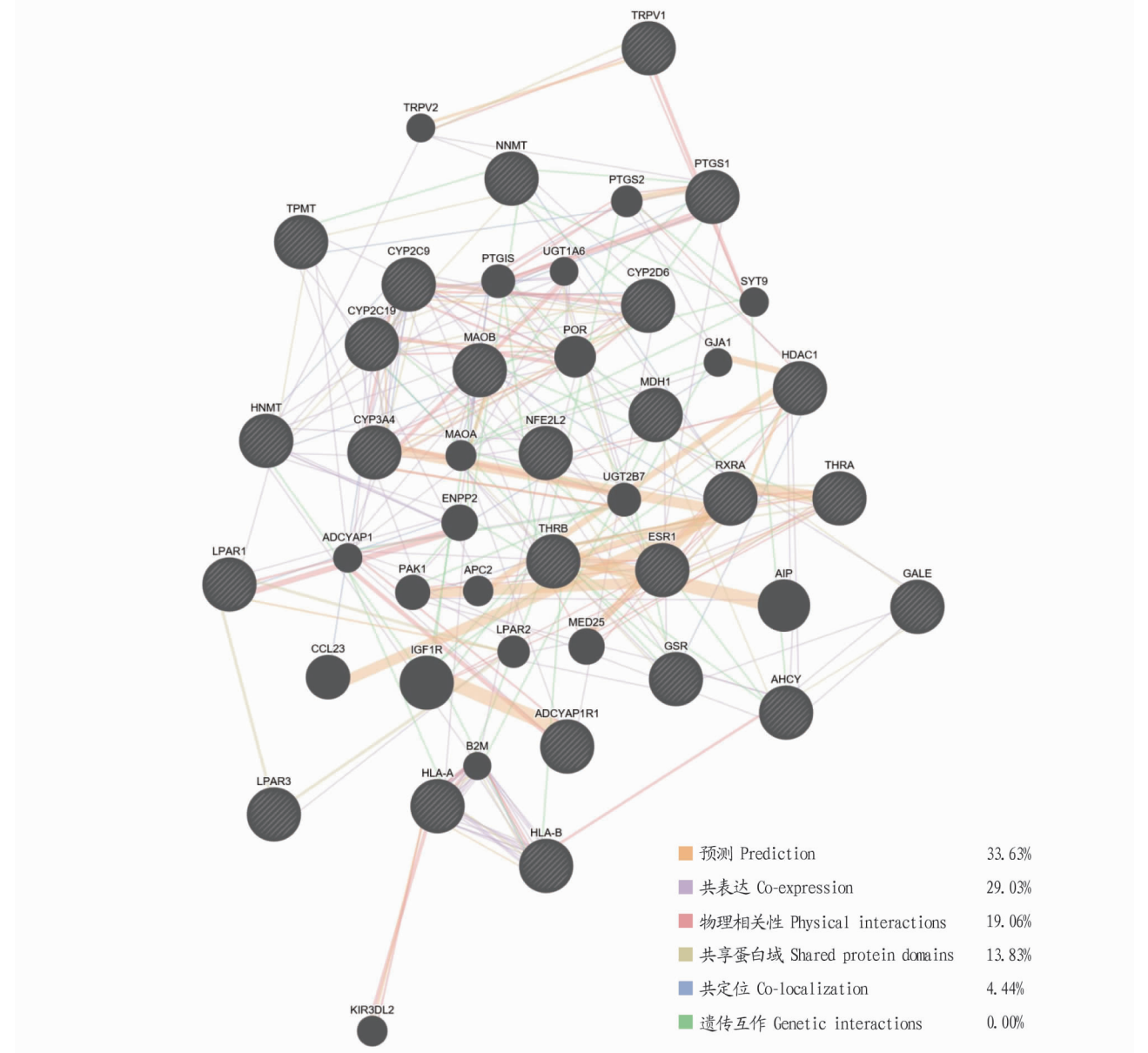
表 2 Sepresa-CPI 预测的辣椒素潜在靶蛋白和不良反应
Table 2 Potential targetprotein and adverse reaction of capsaicin by Sepresa-CPI

排序 Rank	蛋白名称 Protein name	药物不良反应 Adverse drug reaction	Z'值 Z'-score
1	Thiopurine S-methyltransferase	Change in the capacity of drug metabolism	-1.219 581
2	Glutathione reductase, mitochondrial	Cisplatin ototoxicity	-0.885 220
3	Adenosylhomocysteinase	Inhibition by Pentostatin; lymphocytotoxic effects	-0.858 635
4	HLA class I histocompatibility antigen, A-11 alpha chain	Drug hypersensitivity	-0.828 915
5	Nicotinamide N-methyltransferase	Change in the capacity of drug metabolism	-0.750 030
6	Estrogen receptor	exert oncogenesis; Increase in bone Mineral density; Increase in high-density lipoprotein cholesterol; mammary adenocarcinoma	-0.689 078
7	Histamine N-methyltransferase	Change in the capacity of drug metabolism	-0.687 263
8	Retinoic acid receptor RXR-alpha	Cisplatin-induced acute renal failure	-0.616 774
9	HLA class I histocompatibility antigen, B-27 alpha chain	Drug hypersensitivity	-0.531 479
10	Cytochrome P450 2D6	Arrhythmias, Bradycardia, Confusion, Opioid dependence, Lactic acidosis, Hepatotoxicity; Inhibition of CYP2D6 by Paroxetine; Symptoms of perhexiline toxicity such as dizziness, recurrent falls and nausea.	-0.522 280
11	UDP-glucose 4-epimerase	Inhibition by galactose; Galactosemia	-0.503 466
12	Amine oxidase [flavin-containing] B	Change in the capacity of drug metabolism	-0.503 369

在后续步骤中,为了避免遗漏,将 2 种方法学预测得到的结果合并共 25 个靶蛋白用于下一步分析。

2.3 靶蛋白相互作用网络分析 用 GeneMANIA 分析辣椒素 25 个预测靶蛋白之间的相互作用。如图 1 所示,它们之

间主要是通过预测、蛋白共表达、物理相关性、共享蛋白域、共定位等表现出来。这其中预测占 33.63%,共表达占 29.03%,物理相关性占 19.06%,共享蛋白域占 13.83%,共定位占 4.44%。



注:黑色蛋白节点表示靶蛋白;不同颜色线条代表不同的相互作用
Note:Black protein nodes indicated target proteins,and different color lines represented different correlations

图 1 GeneMANIA 分析靶蛋白的相互作用

Fig.1 Functional association of target proteins was analyzed by GeneMANIA

2.4 基因本体 GO 分析 利用 DAVID 平台进行 GO 功能富集分析,对辣椒素涉及的 25 个靶蛋白在基因功能中的作用分析,确定了多个 GO 条目 11 个 ($FDR<0.05,P<0.05$),其中生物过程(BP)条目 6 个,分子功能(CC)条目 1 个,细胞组成(MF)相关条目 4 个(图 2)。

2.5 作用网络构建 利用 DAVID6.8 对辣椒素潜在靶蛋白可能作用的疾病富集分析后,用 Cytoscape 3.4 构建了“辣椒素-靶蛋白-疾病网络”。从图 3 可知,辣椒素潜在靶蛋白可以作用于多种类型的疾病,如癌症(如肺癌、结肠癌、乳腺癌等)、药物反

应(药物超敏综合征、药物性肝损伤等)、心血管疾病(血栓症、冠心病)和炎症(幽门螺杆菌感染、HIV 感染)等。

3 讨论

作为一门新兴学科,系统药理学致力于阐明、验证和应用理论计算结合试验的方法和技术发现活性小分子、确认靶标、研究疾病发病和治疗机制^[4,10]。系统药理学法能帮助人们透彻了解保健食品功能整体性和系统性。在基于雌激素靶标的药食同源中药抗骨质疏松活性网络药理学研究中发现,12种药食同源中药具有防治骨质疏松潜在活性,其中黑

用于多种疾病^[2]。

该研究通过靶点预测、基因富集分析和网络构建等方法对辣椒素的潜在作用靶点进行探讨。对“辣椒素-靶点-疾病”网络分析发现,辣椒素可作用于多个靶点,并可以作用于多种疾病,展示其多靶点和多个环节调节疾病网络的特点,为辣椒食用安全性和功能性系统性评价提供了理论依据。

参考文献

[1] 郑龙辉,陆红佳,刘雄.辣椒素生理功能研究进展[J].食品科学,2011,32(3):262-265.

[2] PATOWARY P,PATHAK M P,ZAMAN K,et al.Research progress of capsaicin responses to various pharmacological challenges[J].Biomed pharmacother,2017,96:1501-1512.

[3] 单峰,黄璐琦,郭娟,等.药食同源的历史和发展概况[J].生命科学,2015,27(8):1061-1069.

[4] HUANG C,ZHENG C L,LI Y,et al.Systems pharmacology in drug discovery and therapeutic insight for herbal medicines[J].Brief Bioinform,2014,15(5):710-733.

[5] KEISER M J,ROTH B L,ARMBRUSTER B N,et al.Relating protein pharmacology by ligand chemistry[J].Nat Biotechnol,2007,25(2):197-206.

[6] YANG L,LUO H,CHEN J,et al.SePreSA:A server for the prediction of populations susceptible to serious adverse drug reactions implementing the methodology of a chemical-protein interactome[J].Nucleic Acids Res,2009,37:406-412.

[7] FRANZ M,RODRIGUEZ H,LOPES C,et al.GeneMANIA update 2018[J].Nucleic Acids Res,2018,46:W60-W64.

[8] 孙厚芳,颜次慧,吴磊,等.基于生物信息学分析的肝细胞癌预后相关基因的筛选[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2019,26(4):431-439.

[9] HUANG D W,SHERMAN B T,LEMPICK R A.Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J].Nat Protoc,2009,4(1):44-57.

[10] 王永华,杨凌.基于系统药理学的现代中药研究体系[J].世界中医药,2013,8(7):801-808.

[11] 丁燕,孙浩,徐飞飞,等.基于雌激素靶标的药食同源中药抗骨质疏松

活性网络药理学初探[J].中国食品学报,2017,17(12):182-192.

[12] 张莉华,崔明超,陈少军.基于网络药理学的葛根抗肿瘤潜在机制探讨[J].天然产物研究与开发,2018,30(4):547-553.

[13] 周怡青,肖友利.活性天然产物靶标蛋白的鉴定[J].化学学报,2018,76(3):177-189.

[14] SHAMSI S,TRAN H,TAN R S J,et al.Curcumin, piperine, and capsaicin: A comparative study of spice-mediated inhibition of human cytochrome P450 isozyme activities[J].Drug Metab Dispos,2017,45(1):49-55.

[15] LI J,MA D,LIN Y,et al.An exploration of the estrogen receptor transcription activity of capsaicin analogues via an integrated approach based on *in silico* prediction and *in vitro* assays[J].Toxicol Lett,2014,227(3):179-188.

[16] WANG S E,KO S Y,KIM Y S,et al.Capsaicin upregulates HDAC2 via TRPV1 and impairs neuronal maturation in mice[J].Exp Mol Med,2018,50(3):1-8.

[17] CLARK R,LEE S H.Anticancer properties of capsaicin against human cancer[J].Anticancer Res,2016,36(3):837-843.

[18] BITENCOURT S,STRADIOT L,VERHULST S,et al.Inhibitory effect of dietary capsaicin on liver fibrosis in mice[J].Mol Nutr Food Res,2015,59(6):1107-1116.

[19] CHOI J H,JIN S W,CHOI C Y,et al.Capsaicin inhibits dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis by inhibiting the TGF-β/smad pathway via peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation[J].J Agric Food Chem,2017,65(2):317-326.

[20] PANCHAL S K,BLISS E,BROWN L.Capsaicin in metabolic syndrome[J].Nutrients,2018,10(5):1-21.

[21] ZHENG J,ZHENG S,FENG Q Y,et al.Dietary capsaicin and its anti-obesity potency: From mechanism to clinical implications[J].Biosci Rep,2017,37(3):1-21.

[22] BHATIA H S,ROELOFS N,MUÑOZ E,et al.Alleviation of microglial activation induced by p38 MAPK/MK2/PGE₂ axis by capsaicin: Potential involvement of other than TRPV1 mechanism/s[J].Sci Rep,2017,7(1):1-14.

[23] WANG J,TIAN W K,WANG S W,et al.Anti-inflammatory and retinal protective effects of capsaicin on ischaemia-induced injuries through the release of endogenous somatostatin[J].Clin Exp Pharmacol Physiol,2017,44(7):803-814.

(上接第 149 页)

在酸性条件下通过释放可溶性铜离子而抑制真菌孢子萌发或菌丝生长,凝固细胞原生质或破坏其细胞中某种酶,从而起到杀菌作用,对已发生的病害治疗效果较差^[8]。菌核净是一种亚胺类化学杀菌剂,具有直接杀菌、内渗治疗作用,在烟草生产上主要用于防治赤星病^[9]。多抗霉素是金色链霉菌所产生的代谢产物,属于广谱性抗生素类杀菌剂,具有较好的内吸传导作用。其作用机理是干扰病菌细胞壁几丁质的生物合成,使菌体细胞壁不能进行生物合成导致病菌死亡,从而达到杀菌的目的,主要用于防治烟草赤星病等^[10]。该试验结果显示波尔多液和多抗霉素对烟草赤星病的防效均优于菌核净,可能是由于长期使用菌核净导致赤星病菌对其出现抗药性,降低了菌核净对烟草赤星病的防治效果。

该试验结果表明,使用 10%多抗霉素 WP 在旺长末期连续 2 次施药(每隔 7 d),能有效预防烟草赤星病的发生,适宜在赣州烟区推广应用。

参考文献

[1] 唐明,程智敏,陈叙生,等.烤烟赤星病的防治药剂及施药时期[J].天津农业科学,2017,23(7):80-83.

[2] 陈杰,李六英,高敏,等.烟草赤星病室内防治药剂筛选及田间防治效果[J].中国烟草科学,2017,38(1):73-77.

[3] 王芳.不同药剂防治烟草赤星病的药效试验[J].安徽农业科学,2007,35(20):6197.

[4] 张文梅,张超群,周治宝,等.不同杀菌剂防治烟草赤星病的田间药效评价[J].生物灾害科学,2013,36(3):288-290.

[5] 朱宇航,黄思洋,陈华保,等.烟草赤星病防治药剂的筛选[J].烟草科技,2019,52(5):14-19.

[6] 李梅云,祝明亮.烟草赤星病菌对菌核净的抗药性测定[J].西南农业学报,2007,20(3):412-416.

[7] 任广伟,孔凡玉,王凤龙,等.烟草病虫害分级及调查方法:GB/T 23222—2008[S].北京:中国标准出版社,2008.

[8] 赵湘江,韩中波,焦彦波,等.波尔多液在烟草生产中的应用[J].现代农业科技,2016(4):148,150.

[9] 张余杰,张亚,刘薇.菌核净在土壤和烟草中残留消解动态研究[J].农药科学与管理,2010,31(1):34-37.

[10] 龙亚飞,王啸,邱树毅,等.农用多抗霉素对不同地域莱氏野村菌的抑制效果[J].江苏农业科学,2015,43(1):144-146.