

基于网络药理学探讨补骨脂治疗良性前列腺增生症的作用机制

周俊丞 肖 遥 杨菱黎 张 凤 阳 方 俞旭君
成都中医药大学 四川 成都 610000

摘要: **目的:** 通过网络药理学相关手段探讨补骨脂治疗良性前列腺增生症(BPH)的作用机制。**方法:** 利用中药生物信息学分析工具数据库(BATMAN-TCM)、中医药百科全书数据库(ETCM)及中药系统药理学分析平台数据库(TCMSP)筛选补骨脂的有效化学成分,并收集对应的作用靶点;使用DisGeNET数据库获取BPH相关靶点,筛选出补骨脂有效化学成分与BPH的交集靶点并利用Venny图加以呈现。采用Cytoscape 3.10.0软件和String数据库绘制“补骨脂有效化学成分-BPH-靶点”和PPI网络图;最终利用DAVID数据库对核心靶点进行GO富集和KEGG通路分析。**结果:** 筛选出补骨脂有效化学成分11个,与BPH交集后获得47个靶点。GO富集分析主要涉及信号传导、细胞凋亡负调控、对外源化合物刺激的反应等过程,KEGG通路分析中主要提示HIF-1信号通路、催乳素信号通路、PI3K-Akt信号通路、雌激素信号通路、Rap1信号通路。**结论:** 补骨脂中的补骨脂双氢黄酮、新补骨脂查耳酮及异补骨脂二氢黄酮等化学成分,AKT1、PTGS2和SRC等核心靶点,信号传导、细胞凋亡负调控和对外源化合物刺激的反应等过程和HIF-1、PI3K-Akt、雌激素等信号通路是补骨脂治疗BPH的潜在作用机制,为后续深入研究补骨脂治疗BPH的具体机制提供了理论支撑。

关键词: 补骨脂;良性前列腺增生;网络药理学

良性前列腺增生(Benign prostatic hyperplasia, BPH)是引起中老年男性排尿障碍的常见泌尿男科疾病。统计发现,60岁男性BPH发病率大于50%,而80岁时可达80%以上。临床症状上BPH的主要表现为尿频、尿急、夜尿增多、排尿困难;严重者可出现尿潴留、慢性肾功能不全等各种并发症。临床治疗上,西医常采用 α 受体阻滞剂、5 α 还原酶抑制剂、M受体抑制剂及手术治疗等,但长期服用 α 受体阻滞剂易增加射精功能障碍风险、5 α 还原酶抑制剂的长期使用易导致性欲减低及勃起功能障碍等疾病的发生。BPH在中医中可划入“精癯”、“淋症”的范畴。中医药在治疗BPH方面能发挥独特的优势,研究证实其能明显缩小前列腺体积、降低患者并发症的发生率、提高患者生活质量^[1]。

中药补骨脂为豆科植物补骨脂(Fructus Psoraleae)的干燥成熟果实,其性辛、苦而温,具有温肾助阳、温脾止泻、固精缩尿等功效。现代药理学研究发现,补骨脂具备免疫调节、植物雌激素样作用、抗骨质疏松、抗炎、抗肿瘤等多种功用^[2]。张珍珍等发现补骨脂中的黄酮类成分可以降低小鼠的前列腺系数^[3]、补骨脂内含的补骨脂酚可通过上调前列腺上皮中ER β 表达、下调前列腺间质中芳香化酶表达,维持雌激素和雄激素的平衡,抑制BPH进程^[4]。本研究拟采用网络药理学方法,

探讨补骨脂治疗BPH的作用机制,为临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 补骨脂化合物筛选及靶点收集

利用BATMAN(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm>)、ETCM(<http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/Index/>)数据库,以“补骨脂”为关键词检索化合物,并将所收集到的化合物录入TCMSP(<http://tcmispw.com/tcmisp.php>)数据库,并依据口服生物利用度(OB) > 30%和类药性(DL) > 0.18的原则筛选有效化学成分及其靶点,并根据相关文献的记载进行补充,最终借助UniProt数据库(<http://www.uniprot.org>)标准化基因名。

1.2 良性前列腺增生症的靶点预测

以“Benign prostatic hyperplasia”为检索词,使用DisGeNET(<https://www.disgenet.org/>)数据库并结合GeneCards数据库(<https://www.genecards.org>),去重后获取BPH的相关靶点,并构建补骨脂活性化合物靶点与BPH疾病靶点的Venn图,图中重合部分则可能是补骨脂治疗BPH的重要靶点。最终通过Cytoscape 3.10.0软件构建补骨脂有效化学成分-BPH-靶点网络。

1.3 蛋白互作网络(PPI)构建及生物学功能和通路分析
将交集靶点分别录入String(<https://cn.string-db.org/>)数

数据库和DAVID (<https://david.ncicrf.gov/home.jsp>)数据库, 并设定物种为“Homo sapiens”, 通过前者构建补骨脂治疗BPH的PPI网络, 并借助Cytoscape 3.10.0软件的“Network Analysis”获取网络度值(degree)以确定关键靶点。通过后者进行基因本体(GO)功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析。最后利用作图软件微生信平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)将获得的结果以气泡图的形式展现。

2 结果

2.1 补骨脂化合物筛选及靶点收集结果

利用BATMAN数据库及ETCM数据库共收集到补骨脂79个有效化学成分, 其次以OB > 30%, DL > 0.18的标准在TCMSP数据库中进行遴选, 并根据相关文献进行补充。共获得11个有效化学成分和185个靶点。补骨脂有效化学成分见表1。

表1 补骨脂主要有效成分

编号	中文名称	化学成分	活性成分入选依据
1	补骨脂甲素	Bavachin	入血成分
2	维生素D3	Vitamin D3	OB > 30%、DL > 0.18
3	异补骨脂二氢黄酮	Isobavachin	OB > 30%、DL > 0.18
4	豆甾醇	Stigmasterol	OB > 30%、DL > 0.18
5	新补骨脂查耳酮	Neobavachalcone	OB > 30%、DL > 0.18
6	异补骨脂素	Angelicin	入血成分
7	补骨脂酚	Bakuchiol	入血成分
8	补骨脂定	Psoralidin	入血成分
9	补骨脂查耳酮	Bavachalcone	入血成分
10	补骨脂色烯查耳酮	Bavachromene	入血成分
11	补骨脂乙素	Isobavachalcone	入血成分

2.2 良性前列腺增生症的靶点预测

DisGeNET数据库中BPH相关靶点共获得770个, 补骨脂作用靶点及BPH的治疗靶点的韦恩图, 靶点之间的交集情况见图1, 共获得47个靶点。由Cytoscape 3.10.0软件制作补骨脂有效化学成分—BPH—靶点网络图(图2)。图2中涉及58条边和59个节点, 其中47个椭圆形表示靶点, 11个菱形表示活性化合物, 1个矩形表示补骨脂。利用Network Analysis功能筛选出Degree值前5名的化合物, 依次为: Bavachin、Neobavachalcone、Isobavachin、Bakuchiol、Vitamin D3, 见表2。

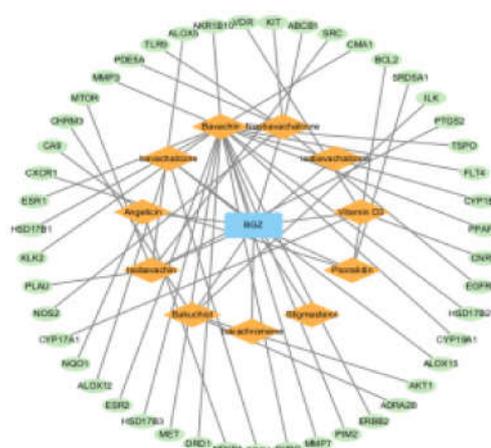


图2 补骨脂有效化学成分-BPH-靶点网络图

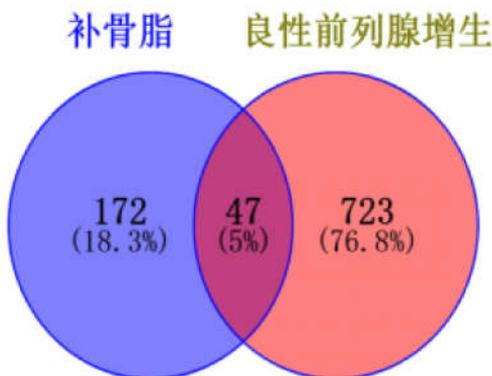


图1 补骨脂有效化学成分治疗BPH的相关靶点韦恩图

表2 核心成分Degree值

化学成分	Degree值
Bavachin	21
Neobavachalcone	7
Isobavachin	6
Bakuchiol	5
Vitamin D3	4

2.3 蛋白互作网络构建结果

采用String数据库对筛选出的交集靶点进行PPI网络分

析, 将得分大于0.4的靶点数据输入 Cytoscape 3.10.0软件进行 Network Analysis功能分析, 绘制出交集靶点的PPI网络图(图3)。PPI网络中节点的形状越大表示Degree值越高, 该节点的作用越强, 其中Degree值前5名的靶点依次为: AKT1、PTGS2、SRC、ESR1、BCL2, 见表3。

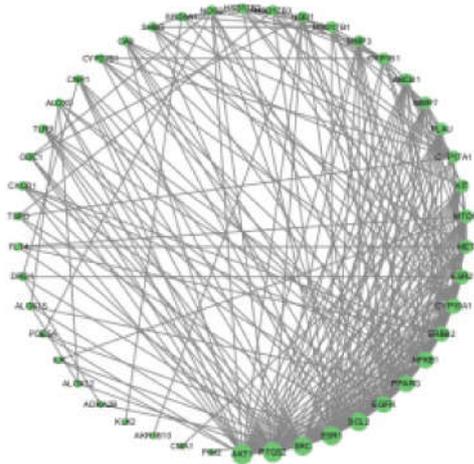


图3 补骨脂治疗BPH的靶点的PPI网络

2.4 生物学功能分析结果

从数据库得到GO分析结果, 运用R语言程序得出主要的GO功能气泡图。根据GO功能分析结果, 显示与生物学过程相关的条目有192个, 生物过程(BP)主要涉及: 信号传导、细胞凋亡过程的负调控、对外源性刺激的反应等。与生物组分相关的条目有26个, 细胞组分(CC)涉及: 内质网膜、受体复合物、基质膜等。与生物功能相关的条目有54个, 分子功能(MF)涉及: 蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、蛋白激酶活性等。选取各组P值排名前20的功能信息, 形成补骨脂治疗BPH的GO富集分析, 见图4A、4B、4C。

表3 核心靶点Degree值

Gene	Degree值
AKT1	28
PTGS2	27
SRC	25
ESR1	25
BCL2	24

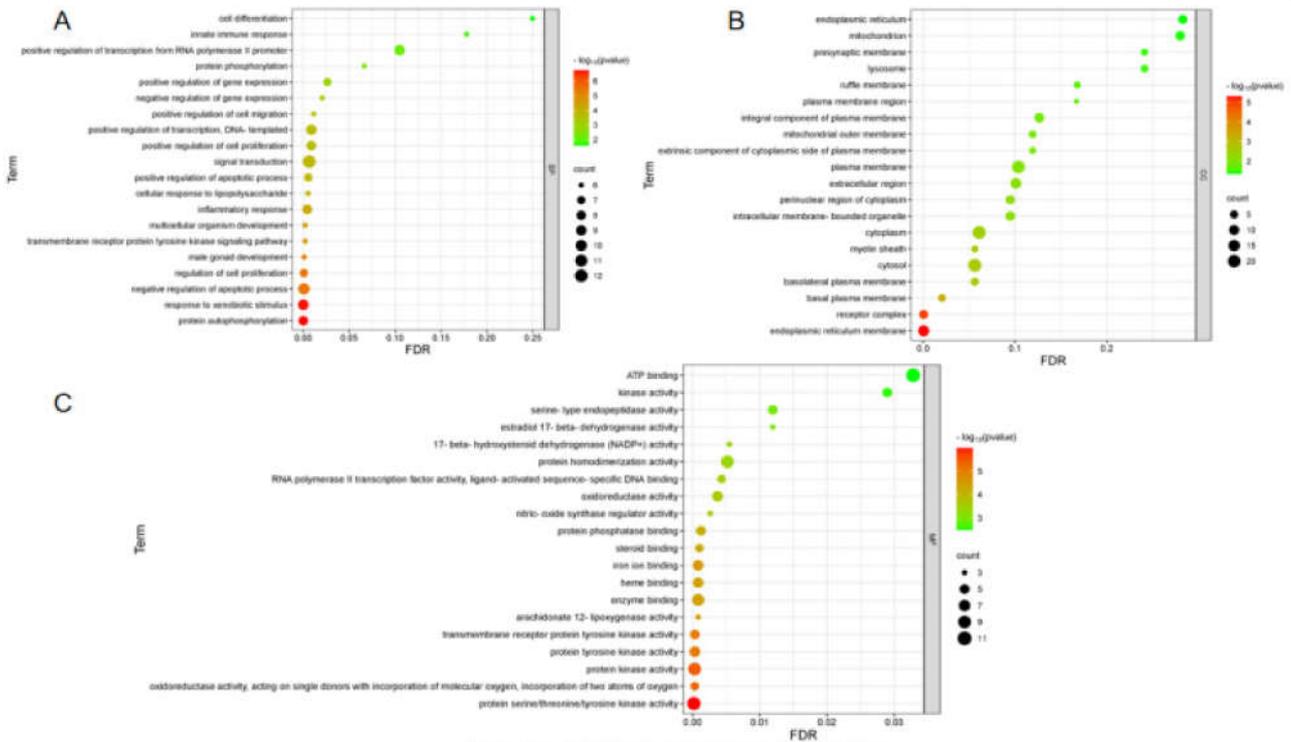


图4 补骨脂治疗BPH的GO富集分析

2.5 通路分析结果

KEGG分析结果显示共有22条通路参与过程, 如图5所示, 其中主要涉及HIF-1信号通路(HIF-1 signaling

pathway)、催乳素信号通路(Prolactin signaling pathway)、PI3K-Akt信号通路(PI3K-Akt signaling pathway)及雌激素信号通路(Estrogen signaling pathway)。

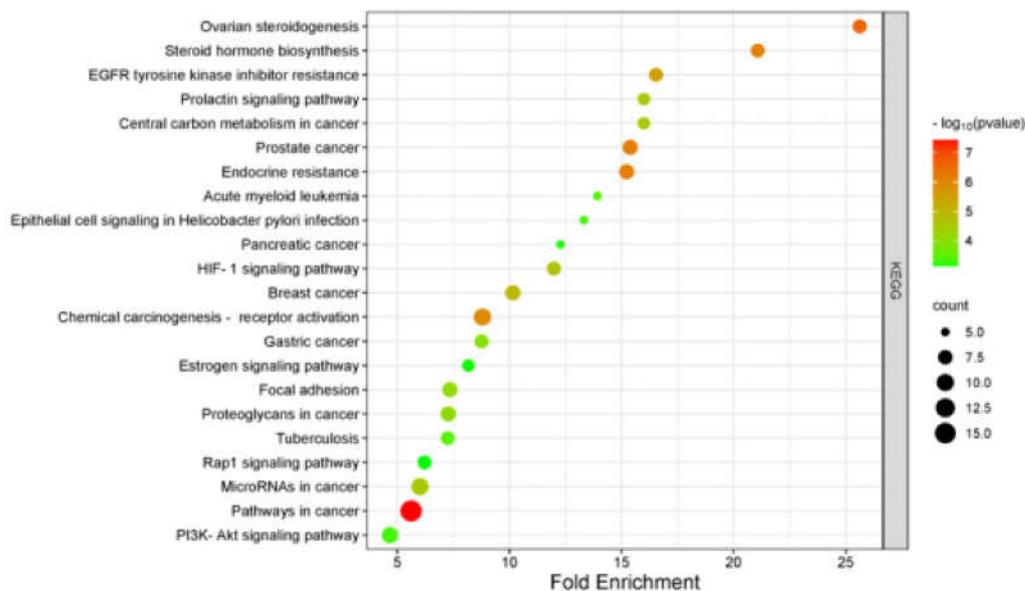


图5 补骨脂治疗BPH的KEGG富集分析

3 讨论

中医学认为癃闭的病机主要为三焦失司，膀胱气化不利，病变部位在精室。有关癃闭的病因，《景岳全书》中提及：真阳下竭，元海无根，气虚而闭；肾中蕴含元阳，肾阳不足，水液气化不利，膀胱开阖失常进而发展为尿闭。补骨脂归入脾、肾二经，具有温肾助阳、温脾止泻、固精缩尿等功效，临床上亦常用于肾阳虚型癃闭的治疗。

本研究确认了补骨脂中的11个成分可能为作用于BPH的潜在成分，Degree值分数前5位的是补骨脂双氢黄酮、新补骨脂查耳酮、异补骨脂二氢黄酮、补骨脂酚、维生素D3。其中补骨脂双氢黄酮作为I κ B α /NF- κ B的靶向化合物，具有缓解慢性炎症、抗炎的功效，对于由慢性炎症诱导的良性前列腺增生可能具有较好的治疗效果；异补骨脂二氢黄酮，作为雄激素受体（AR）拮抗剂，可破坏雄激素的核易位并促进其蛋白酶体降解，从而减轻双氢睾酮对慢性前列腺增生的促进作用，补骨脂酚通过上调前列腺上皮中ER β 表达、下调前列腺间质中芳香化酶表达，维持雌激素和雄激素的平衡，抑制BPH进程^[5]。Vaughan等发现，维生素D能保护BPH患者前列腺细胞免受氧化应激反应所致的细胞死亡，可以有效阻止前列腺增生症的发生。但新补骨脂查耳酮对于良性前列腺增生的作用目前尚不明确。

韦恩图展示了47个共有靶点，体现了中药多靶点的治疗特色。PPI网络分析中degree前5名的靶点为AKT1、PTGS2、SRC、ESR1、BCL2。研究发现AKT1的缺失会

促进前列腺上皮细胞-间充质转化及E-钙黏蛋白的缺失，进而促进前列腺增生的发生与进展；PTGS2是前列腺腺内过氧化物合酶（PTGS）的一种同工酶，起到将花生四烯酸转化为前列腺素H₂（PGH₂）的作用，PGH₂具有抑制细胞凋亡、促进细胞增殖、抑制免疫监视、促进血管生成等生物活性，PTGS2可通过上调PGH₂进而起到促进大鼠前列腺增生的作用^[6]；既往研究表明AR可被雄激素激活，调控下游转录因子，从而引起前列腺的异常增殖，从而起到延缓前列腺增生进展的作用，SRC的激活可起到直接磷酸化雄激素受体（AR），并起到诱导AR的核移位的作用。因此AKT1、PTGS2、SRC可作为前列腺增生的潜在治疗靶点。

GO富集分析显示交集靶点主要与信号传导、细胞凋亡负调控和对外源化合物刺激的反应等多个过程有关。KEGG富集分析提示药物成分可能通过HIF-1、PI3K-Akt、雌激素信号通路等发挥治疗作用，体现了中药多途径的治疗特点。HIF-1是由HIF-1 α 和HIF-1 β 亚基组成的转录因子，在缺氧反应中起关键作用。研究表明HIF-1 α 在高度增生的前列腺组织中表达增加，并与前列腺重量密切相关，可作为BPH的独立危险因素之一；PI3K-Akt通路的过表达可促使前列腺增生，而给予BPH模型大鼠PI3K/AKT抑制剂治疗后可显著降低前列腺湿重和前列腺指数。PI3K作为一种细胞内脂质激酶，可改变下游Akt结构并使其活化，进而激活在炎症及免疫应答中发挥主要效应的NF- κ B通路；雌激素通过ER介导参与了老年男性良性前列腺增生的发生，此外雌激素还能通过诱导转

化生长因子(TGF02)的表达及影响SMC表型转化来促使BPH的发生^[7], KEGG富集分析结果说明, 补骨脂治疗BPH的机制可能是活性化合物通过抑制与炎症和免疫应答相关的多条信号通路及雌激素信号通路, 阻碍炎症发展及诱导转化生长因子的表达及影响SMC表型, 从而延缓并抑制BPH的发生发展。

综上所述, 本研究初步阐释了补骨脂治疗BPH的作用机理, 但研究依托于大数据背景下的在线数据库, 受制于数据库的更新和发展, 因此本研究获得的结果或不完备, 有赖后续进一步的实验加以补充、完善。

参考文献

- [1]马健雄, 陈望强, 丁劲, 等. 李海松治疗良性前列腺增生症八法[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3535-3537.
- [2]李璘, 邱蓉丽, 乐巍, 等. 补骨脂雌激素样作用实验研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(4): 57-58.
- [3]张珍珍, 王凯燕, 刘莉, 张国青, 邵长森, 徐桂红, 林桂涛, 等. 补骨脂主要活性成分抑制小鼠前列腺增生的作用研究[J]. 山东中医杂志, 2020, 39(5): 504-509.
- [4]马丽, 沈佳曼, 郭文琴, 高建莉. 玉屏风散对小鼠胸腺上皮细胞介导的皮肤淋巴细胞功能的影响[J]. 2019, 33(9): 675.
- [5]齐雅馨, 等. 补骨脂酚通过上调上皮雌激素受体 β 和下调间质芳香化酶抑制大鼠良性前列腺增生[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(9): 675.
- [6]池宁娟, 刘明义, 冯娟, 石小鹏, 王婧雯. 如意金黄贴对良性前列腺增生大鼠 TGF β 1、PTGS2 mRNA及相关蛋白的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(10): 4831-4834.
- [7]吴荃, 智松, 周颖, 等. TGF β 1介导雌二醇对前列腺间质细胞smoothelin表达的促进作用[J]. 南开大学学报. 自然科学版, 2007, 40(2): 57-61.