

## • 药理与临床 •

## 基于中药整合药理学计算平台的当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病分子机制研究

于华芸<sup>1,2</sup>, 吴智春<sup>1,2</sup>, 韩晓春<sup>1,2</sup>, 王媛<sup>1,2</sup>, 马婷<sup>1,2</sup>, 张成博<sup>1,2</sup>, 季旭明<sup>1,2,3\*</sup>

1. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

2. 山东省中医经典名方协同创新中心, 山东 济南 250355

3. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053

**摘要:** **目的** 基于整合药理学思路和方法, 对经方当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的物质基础及分子机制进行初步分析。**方法** 利用中药整合药理学计算平台(TCM-IP, www.tcmip.cn)预测当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的主要活性成分及作用靶点, 筛选关键靶标并进行通路富集分析, 构建当归贝母苦参丸“中药材-核心成分-关键靶标-主要通路”多维网络, 探索其治疗前列腺疾病的可能机制。**结果** 筛选出当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的候选关键靶标 532 个, 获得候选关键靶标的 gene ontology (GO) 分析结果 1 840 条, KEGG 通路富集分析结果 194 条。“中药材-核心成分-关键靶标-主要通路”网络关联分析结果获得当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的核心成分 65 个(当归 29 个、浙贝母 11 个、苦参 26 个, 其中有 1 个成分为当归和浙贝母的共有成分), 作用于转录因子结合、凋亡负性调控等关键靶标, 通过雌激素、凋亡、趋化因子等信号通路, 发挥细胞周期、细胞凋亡与增殖失衡调控等作用, 这可能是其治疗前列腺疾病的相关分子机制。**结论** 当归贝母苦参丸是以多成分交互作用于多靶点, 通过多通路参与调控良性前列腺增生症(BPH)、前列腺癌等疾病发生发展过程, 从而发挥一定的治疗作用。

**关键词:** 当归贝母苦参丸; 整合药理学; 前列腺疾病; 分子机制; 当归; 贝母; 苦参**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)19-4567-08**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.015

## Molecular mechanism of Danggui Beimu Kushen Pills in treating prostatic diseases based on TCM-IP

YU Hua-yun<sup>1,2</sup>, WU Zhi-chun<sup>1,2</sup>, HAN Xiao-chun<sup>1,2</sup>, WANG Yuan<sup>1,2</sup>, MA Ting<sup>1,2</sup>, ZHANG Cheng-bo<sup>1,2</sup>, JI Xu-ming<sup>1,2,3</sup>

1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

2. Shandong Co-Innovation Center of Classic TCM Formula, Jinan 250355, China

3. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

**Abstracts: Objective** To analyze the material basis and molecular mechanisms of Danggui Beimu Kushen (DBK) Pills in treating prostatic diseases based on the method of integrated pharmacology. **Method** The platform of Integrative Pharmacology of Traditional Chinese Medicine (TCM-IP, www.tcmip.cn) was utilized to predict the main active ingredients and functional targets of DBK Pills in treating prostatic disease, key targets were screened for enrichment analysis of pathways, and the network of “herb-core component-key target-main pathway” was constructed, and the possible mechanisms of DBK Pills in treating prostatic diseases were explored. **Results** A total of 532 candidate key targets for the treatment of prostatic diseases by DBK Pills were predicted, and 1 840 terms of gene function and 194 signal pathways were analyzed by gene ontology (GO) and KEGG, respectively. The network analysis of “herb-core component-key target-main pathway” showed that 65 core components were predicted, including 29 ingredients from *Angelica sinensis*, 11 from *Fritillaria thunbergii* and 26 from *Sophora flavescens*. Those predicted components acted on the key targets of prostatic diseases, such as transcription factor binding, negative regulation of apoptosis, et al, through the estrogen, apoptosis, chemokines and other signal pathways, and thus played a role in the regulation of cell cycle, apoptosis and proliferation imbalance, which might

收稿日期: 2018-03-27

基金项目: 山东省重点产业关键技术项目(2016CYJS08A01-4, 2016CYJS08A01-3); 山东省重点研发计划(2016ZDJS07A12)

作者简介: 于华芸(1977—), 副教授, 从事复方药理学研究。Tel: (0531)89628527 E-mail: yuhuayunfish@163.com

\*通信作者 季旭明(1972—), 女, 博士, 博士生导师, 教授, 研究方向为经典名方研究与开发。E-mail: jixuming724@163.com

be the molecular mechanisms of DBK Pills for the treatment of prostatic disease. **Conclusion** DBK Pills regulate the development of BPH, prostate cancer and other diseases through multiple pathways with multi-component interacting with multiple targets.

**Key words:** Danggui Beimu Kushen Pills; integrated pharmacology; prostatic diseases; molecular mechanism; *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; *Fritillaria thunbergii* Miq.; *Sophora flavescens* Ait.

当归贝母苦参丸又名苦参丸、归母苦参丸，方出《金匱要略》，由当归、贝母、苦参各4两组成，用于治疗“妊娠小便难，饮食如故”。近现代医家临床扩展用于治疗前列腺炎<sup>[1-2]</sup>、良性前列腺增生症(BPH)<sup>[3]</sup>、前列腺疼痛综合征<sup>[4]</sup>及前列腺癌<sup>[5]</sup>等，取得较好疗效。但目前尚缺乏对本方整体成分、网络靶标及作用机制的发现、辨识、关联和分析研究，其治疗前列腺疾病的分子机制仍不清楚。

中药整合药理学计算平台(TCM-IP, www.tcmip.cn)以中医药大数据为支撑，以人工智能、数据挖掘、网络科学等为手段，从整体角度研究中药复方与疾病间的关联性，能有效地揭示药效物质基础及分子机制<sup>[6]</sup>。本研究基于TCM-IP(V1.0)，以方剂(中药)-成分-网络靶标-疾病多层次网络为框架，对当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的物质基础及分子机制进行初步挖掘，以期为临床和实验研究提供依据。

## 1 方法

### 1.1 检索与查询

应用TCM-IP整合的数据库进行以下内容检索查询。

**1.1.1 中药材数据库** 检索查询当归贝母苦参丸组成中药当归、浙贝母、苦参的名称、基原、性味、归经、功效以及所含化合物信息。

**1.1.2 中药成分数据库** 检索当归贝母苦参丸组成中药化学成分信息，包括CAS号、分子式、相对分子质量、物理化学性质、药物代谢性质等。

**1.1.3 疾病/症状靶标数据库** 以“prostate”为关键词检索治疗前列腺疾病的药物及靶标信息。

### 1.2 靶标预测和共性靶标分析<sup>[6]</sup>

采用MACCS分子指纹，使用OpenBabel软件进行化学指纹特征提取，采用Tanimoto系数定义的相似度计量方法，与FDA上市药物进行相似性打分(score $\geq 0.7$ )，提取当归贝母苦参丸组成中药的潜在作用靶标，并进行共有靶标分析。

### 1.3 成分靶标-疾病靶标网络构建与关键靶标筛选<sup>[6]</sup>

提取当归贝母苦参丸中药成分靶标与前列腺疾病相关靶标之间的相互作用关系，建立当归贝母苦参丸组成中药成分靶标-前列腺疾病基因互作网络；以节点连接度(degree)的2倍中位数为卡值，选

取互作网络的核心节点(hubs节点)；在此基础上，以节点连接度、节点紧密度(closeness)和节点介度(betweenness)的中位数为卡值，选取同时满足3个卡值的节点为当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的候选关键靶标。

### 1.4 关键靶标的基因功能和信号通路分析<sup>[6]</sup>

基于gene ontology(GO)数据库和KEGG通路数据库，通过富集计算，对当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的关键靶标进行基因功能和信号通路分析，构建“核心成分-关键靶标-主要通路”多维网络关联图。

## 2 结果与分析

### 2.1 当归贝母苦参丸组成中药的靶标预测结果

通过TCM-IP中药成分数据库检索到当归贝母苦参丸组成中药当归含化学成分65个，预测靶标774个；苦参含化学成分78个，预测靶标498个；浙贝母含化学成分42个，预测靶标936个；相似性打分设为score $\geq 0.7$ ，获得当归贝母苦参丸2208个“成分-靶标”对信息。3味中药间的共有靶标分析结果显示，当归与浙贝母间有胸苷激酶(TK)、胆碱磷酸胞苷酰转移酶(PCYT1A、PCYT1B)、磷脂酶D(PLD1、PLD2)等138个共有靶标；当归与苦参间有核受体辅激活蛋白(NCOA1、NCOA2)、ATP合成酶(ATP5A1、ATP5B、ATP5C1)、腺苷酸环化酶(ADCY2、ADCY5)等52个共有靶标；浙贝母与苦参间有蛋白磷酸酶(PPP1CC)、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>-ATP酶A1亚基(ATP1A1)等5个共有靶标；3味药物间有蛋白磷酸酶(PPP1CC)、ATP1A1及YWHAE蛋白(YWHAE)3个共有靶标。部分共有靶标信息见表1。

当归贝母苦参丸方所治妊娠小便难，古今医家多责之血虚有热(湿热)、津液涩少<sup>[7-8]</sup>，故方以当归活血养血润燥，为君药；贝母开解郁结，开肺气，通水道，主“淋沥邪气”(《神农本草经》)；苦参清热利湿，主“溺有余沥”(《神农本草经》)，为臣佐药。组成药物共同靶标分析结果显示，方中3味中药间均有不同数目的共同靶标，提示君臣佐药之间存在一定相辅或相制的相互作用关系，从而发挥多成分、多靶点、整体协同的治疗作用。且君药当归

表 1 当归贝母苦参丸各组成中药间部分共有靶标信息  
 Table 1 Partial common targets in herbs of DBK Pill

| 中药        | 共有靶标数目 | 部分共有靶标信息                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 当归-浙贝母    | 138    | TK、ACHE、BCHE、PCYT1A、PCYT1B、PHOSPHO1、PLD1、PLD2、THYA、PLA2G2D、FURIN、LIPB、PAB、TCP14、HNF4G、LALBA、TRAPPC3、TM_1468、PECI、FADR、GUCA1A、LUXF、NEF、MT1417、PPP3CA、GAG、RCVRN、RV0233、PTGS1、PTGS2、CYPC、PPA1039、LY96、TONB                            |
| 当归-苦参     | 52     | CYP2C9、UGT3A1、TTGR、NCOA1、NCOA2、ASST、ATP5A1、ATP5B、ATP5C1、HIBCH、FABZ、STK17B、CCRA、MTTP、SOAT2、ITGB2、CAT3、CAT、FUSA、CYP27B1、MED1、VDR、POLA、HDAC2、PPP1CC、SMO、ADCY2、ADCY5、GNAS、NR3C1、ANXA1、PSBA1、SERPINA1、CSD、PBPX、AQPZ、PETC、PETB、PUHA、PETA |
| 浙贝母-苦参    | 5      | ILES、LGTC、PPP1CC、ATP1A1、YWHAE                                                                                                                                                                                                      |
| 当归-浙贝母-苦参 | 3      | PPP1CC、ATP1A1、YWHAE                                                                                                                                                                                                                |

与贝母、苦参间共同靶标分别占总靶标数目的 70.8%和 26.7%，贡献度较大，提示当归与他药之间的关联作用较为紧密。

2.2 当归贝母苦参丸中药成分-前列腺疾病靶标互作网络的构建与关键靶标筛选

利用 TCM-IP 疾病靶标数据库，以“prostate”为关键词检索前列腺疾病相关靶标，建立当归贝母苦参丸组成中药靶标-前列腺疾病基因互作网络，获得核心节点 1 827 个，在此基础上，筛选出当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的候选关键靶标 532 个，其中治疗前列腺疾病的直接靶标 12 个、预测候选靶标 239 个、一般靶标 2 个、其他靶标 279 个，选

取 degree 值排名前 100 的关键靶标，提取靶标间的相互作用关系，构建治疗前列腺疾病的候选关键靶标网络图，见图 1。

筛选出当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的 12 个直接靶标分别为雌激素受体（ESR1、ESR2）、促性腺激素释放激素受体（GNRHR）、β 微管蛋白（TUBB2A、TUBB6、TUBB2B、TUBB3）、前列腺素 E 合成酶 3（PTGES3）、凋亡信号分子（BIRC5）、嗜酸性蛋白 X（EPX）、热休克蛋白基因（HSPB1）和核糖体蛋白（RPSA）。雌激素作为生长刺激因子，可通过 ESR 信号途径作用于前列腺上皮细胞和前列腺间质引起腺样和间质增生；ESR 信号通路与前

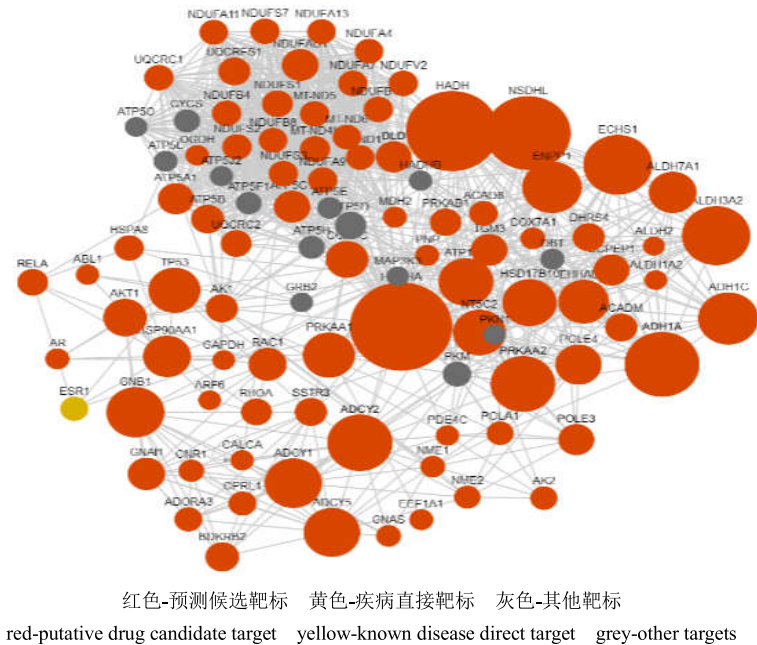


图 1 当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的候选关键靶标网络图  
 Fig. 1 Interaction network of candidate key targets of DBK Pills in treating prostatic diseases

列腺癌的发生发展关系密切,研究发现抗雌激素药物可通过 ESR2 途径抑制前列腺癌 DU145 细胞的生长<sup>[9-11]</sup>。GnRHR 是 degarelix 及 goserelin 等促性腺激素释放激素(GnRH)类似物治疗前列腺癌及 BPH 的主要靶点<sup>[12-13]</sup>。 $\beta$  微管蛋白是细胞的一种骨架蛋白,与  $\alpha$  微管蛋白形成的二聚体是微管的基本结构单位,在细胞有丝分裂纺锤体形成中发挥重要作用,调节  $\beta$  微管蛋白、抑制微管形成,是治疗前列腺癌等恶性肿瘤药物的重要靶点<sup>[14-16]</sup>。细胞凋亡与增殖失衡是 BPH 和前列腺癌发生的主要原因,诱导细胞凋亡、抑制增殖是 BPH 及前列腺癌的有效治疗途径<sup>[17]</sup>。

### 2.3 当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病候选关键靶标基因功能和信号通路分析

基于 GO 数据库和 KEGG 通路数据库,通过富集计算,获得当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病候选关键靶标的 GO 富集分析结果 1 840 条,涉及靶标基因或蛋白质的细胞组分(cellular component)、分子功能(molecular function)以及参与的生物学过程(biological process)。 $P$  值排序前 20 位的分子功能和生物学过程基因功能信息见表 2;获得候选关键靶标的 KEGG 通路富集分析结果 194 条,部分通路信息见表 3。

进行 GO 分子功能分析,发现显著富集的分子

表 2 当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病候选关键靶标部分基因功能信息

Table 2 Functional information of partial genes of candidate key targets of DBK Pills in treating prostatic diseases

| GO 功能 | GO          | GO 注释                                                                | 靶标数目 | $P$ 值                  |
|-------|-------------|----------------------------------------------------------------------|------|------------------------|
| 分子功能  | GO: 0005524 | ATP binding                                                          | 132  | $1.21 \times 10^{-34}$ |
|       | GO: 0019899 | enzyme binding                                                       | 52   | $1.24 \times 10^{-25}$ |
|       | GO: 0005515 | protein binding                                                      | 350  | $4.52 \times 10^{-23}$ |
|       | GO: 0004674 | protein serine/threonine kinase activity                             | 50   | $2.35 \times 10^{-22}$ |
|       | GO: 0004672 | protein kinase activity                                              | 39   | $3.32 \times 10^{-22}$ |
|       | GO: 0042802 | identical protein binding                                            | 62   | $4.63 \times 10^{-19}$ |
|       | GO: 0051287 | NAD binding                                                          | 17   | $4.47 \times 10^{-17}$ |
|       | GO: 0008137 | NADH dehydrogenase (ubiquinone) activity                             | 17   | $3.38 \times 10^{-15}$ |
|       | GO: 0031625 | ubiquitin protein ligase binding                                     | 36   | $8.67 \times 10^{-15}$ |
|       | GO: 0009055 | electron carrier activity                                            | 21   | $3.10 \times 10^{-14}$ |
|       | GO: 0008134 | transcription factor binding                                         | 35   | $6.77 \times 10^{-14}$ |
|       | GO: 0032403 | protein complex binding                                              | 32   | $9.00 \times 10^{-14}$ |
|       | GO: 0003924 | GTPase activity                                                      | 31   | $2.92 \times 10^{-13}$ |
|       | GO: 0008144 | drug binding                                                         | 19   | $3.62 \times 10^{-13}$ |
|       | GO: 0019901 | protein kinase binding                                               | 40   | $5.15 \times 10^{-13}$ |
|       | GO: 0019903 | protein phosphatase binding                                          | 15   | $2.12 \times 10^{-10}$ |
|       | GO: 0004029 | aldehyde dehydrogenase (NAD) activity                                | 9    | $3.55 \times 10^{-10}$ |
|       | GO: 0046933 | proton-transporting ATP synthase activity, rotational mechanism      | 8    | $3.80 \times 10^{-10}$ |
|       | GO: 0016301 | kinase activity                                                      | 15   | $6.48 \times 10^{-10}$ |
|       | GO: 0022857 | transmembrane transporter activity                                   | 10   | $8.86 \times 10^{-10}$ |
| 生物学过程 | GO: 0030168 | platelet activation                                                  | 28   | $2.85 \times 10^{-19}$ |
|       | GO: 0006468 | protein phosphorylation                                              | 53   | $7.04 \times 10^{-19}$ |
|       | GO: 0042493 | response to drug                                                     | 43   | $1.32 \times 10^{-17}$ |
|       | GO: 0006120 | mitochondrial electron transport, NADH to ubiquinone                 | 19   | $1.67 \times 10^{-17}$ |
|       | GO: 0018105 | peptidyl-serine phosphorylation                                      | 26   | $1.98 \times 10^{-16}$ |
|       | GO: 0006099 | tricarboxylic acid cycle                                             | 15   | $1.99 \times 10^{-16}$ |
|       | GO: 0043066 | negative regulation of apoptotic process                             | 48   | $6.24 \times 10^{-16}$ |
|       | GO: 0006754 | ATP biosynthetic process                                             | 13   | $2.26 \times 10^{-13}$ |
|       | GO: 0032869 | cellular response to insulin stimulus                                | 19   | $7.48 \times 10^{-13}$ |
|       | GO: 0007165 | signal transduction                                                  | 72   | $1.41 \times 10^{-12}$ |
|       | GO: 0032981 | mitochondrial respiratory chain complex I assembly                   | 16   | $6.33 \times 10^{-12}$ |
|       | GO: 0007190 | activation of adenylate cyclase activity                             | 13   | $6.44 \times 10^{-12}$ |
|       | GO: 0016032 | viral process                                                        | 33   | $7.37 \times 10^{-12}$ |
|       | GO: 0046777 | protein autophosphorylation                                          | 25   | $8.32 \times 10^{-12}$ |
|       | GO: 0003091 | renal water homeostasis                                              | 12   | $1.61 \times 10^{-11}$ |
|       | GO: 0042776 | mitochondrial ATP synthesis coupled proton transport                 | 10   | $1.84 \times 10^{-11}$ |
|       | GO: 0042542 | response to hydrogen peroxide                                        | 14   | $9.09 \times 10^{-11}$ |
|       | GO: 0006635 | fatty acid beta-oxidation                                            | 12   | $1.81 \times 10^{-10}$ |
|       | GO: 0045944 | positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter | 62   | $2.24 \times 10^{-10}$ |
|       | GO: 0051000 | positive regulation of nitric-oxide synthase activity                | 9    | $3.55 \times 10^{-10}$ |

表 3 当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病候选关键靶标参与的部分通路信息

Table 3 Part of pathway information candidate key targets involved of DBK Pills in treating prostatic diseases

| ID       | 通路名称                                        | 靶标数目 | P 值                    | ID       | 通路名称                                 | 靶标数目 | P 值                    |
|----------|---------------------------------------------|------|------------------------|----------|--------------------------------------|------|------------------------|
| hsa00230 | purine metabolism                           | 58   | $5.77 \times 10^{-26}$ | hsa00640 | propanoate metabolism                | 18   | $1.94 \times 10^{-13}$ |
| hsa04932 | non-alcoholic fatty liver disease           | 46   | $1.05 \times 10^{-18}$ | hsa04012 | ErbB signaling pathway               | 29   | $2.52 \times 10^{-13}$ |
| hsa05215 | prostate cancer                             | 35   | $1.73 \times 10^{-18}$ | hsa04921 | oxytocin signaling pathway           | 40   | $2.69 \times 10^{-13}$ |
| hsa04915 | estrogen signaling pathway                  | 37   | $2.00 \times 10^{-18}$ | hsa04370 | VEGF signaling pathway               | 24   | $4.70 \times 10^{-16}$ |
| hsa04912 | GnRH signaling pathway                      | 35   | $6.12 \times 10^{-18}$ | hsa04066 | HIF-1 signaling pathway              | 31   | $1.97 \times 10^{-12}$ |
| hsa00620 | pyruvate metabolism                         | 24   | $9.73 \times 10^{-18}$ | hsa05210 | colorectal cancer                    | 23   | $6.25 \times 10^{-12}$ |
| hsa01200 | carbon metabolism                           | 37   | $1.93 \times 10^{-17}$ | hsa04150 | mTOR signaling pathway               | 21   | $1.89 \times 10^{-10}$ |
| hsa04919 | thyroid hormone signaling pathway           | 39   | $3.10 \times 10^{-17}$ | hsa05222 | small cell lung cancer               | 25   | $3.33 \times 10^{-10}$ |
| hsa05200 | pathways in cancer                          | 68   | $3.23 \times 10^{-17}$ | hsa04664 | Fc epsilon RI signaling pathway      | 22   | $7.50 \times 10^{-10}$ |
| hsa00071 | fatty acid degradation                      | 24   | $4.25 \times 10^{-17}$ | hsa04660 | T cell receptor signaling pathway    | 27   | $1.08 \times 10^{-9}$  |
| hsa04062 | chemokine signaling pathway                 | 49   | $1.23 \times 10^{-16}$ | hsa04014 | ras signaling pathway                | 41   | $8.56 \times 10^{-9}$  |
| hsa04540 | gap junction                                | 33   | $1.39 \times 10^{-16}$ | hsa04210 | apoptosis                            | 23   | $1.02 \times 10^{-8}$  |
| hsa05212 | pancreatic cancer                           | 28   | $4.79 \times 10^{-16}$ | hsa04620 | Toll-like receptor signaling pathway | 23   | $6.57 \times 10^{-7}$  |
| hsa05223 | non-small cell lung cancer                  | 25   | $4.32 \times 10^{-15}$ | hsa04010 | MAPK signaling pathway               | 40   | $8.54 \times 10^{-7}$  |
| hsa00280 | valine, leucine, and isoleucine degradation | 22   | $1.01 \times 10^{-14}$ | hsa04151 | PI3K-AKT signaling pathway           | 47   | $5.34 \times 10^{-6}$  |

功能主要为 ATP 结合 (GO: 0005524)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性 (GO: 0004674)、转录因子结合 (GO: 0008134) 等; 生物学过程主要为血小板活化 (GO: 0030168)、药物应答 (GO: 0042493)、柠檬酸循环 (GO: 0006099)、凋亡负性调控 (GO: 0043066) 等。候选关键靶标的 KEGG 通路富集分析发现除了前列腺癌 (hsa05215)、雌激素信号通路 (hsa04915)、促性腺激素释放激素信号通路 (hsa04912)、凋亡信号通路 (hsa04210) 以外, 所富集的趋化因子信号通路 (hsa04062)、血管内皮生长因子信号通路 (hsa04370)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路 (hsa04010)、mTOR 信号通路 (hsa04150)、PI3K-AKT 信号通路 (hsa04151)、Ras 信号通路 (hsa04014) 等亦与前列腺疾病密切相关。血管内皮生长因子 (VEGF) 和受体 VEGFR<sub>2</sub> 在前列腺增生组织以及前列腺癌的上皮细胞、基质细胞和微血管壁中高表达, 通过旁分泌、自分泌方式刺激血管内皮细胞增殖、促进血管新生, 调节肿瘤细胞增殖以及发挥抗凋亡作用, 抑制 VEGF 信号通路可抑制血管新生、抑制前列腺增生并促进前列腺癌细胞凋亡<sup>[18-20]</sup>。MAPK 信号通路, 主要包括细胞外调节蛋白激酶 (ERK)、P38 以及 JNK 3 条通路, 其中 P38 MAPK 信号通路与炎症、应激反应的调控密切, 其介导的炎症反应参与慢性非细菌性前列腺炎的炎症

反应<sup>[21]</sup>, 通过调节炎症因子的活性以及核内基因转录, 在慢性前列腺炎疼痛的发生和维持阶段起重要作用<sup>[22]</sup>。PI3K-AKT 信号通路通过调控细胞周期, 促进蛋白质合成和血管形成, 促进增殖而抑制细胞凋亡, 在 BPH 发展过程中发挥重要作用, 阻断 PI3K-AKT 信号通路具有抑制增生作用<sup>[23]</sup>。此外, 研究发现 PI3K/AKT/mTOR、CXCL12-CXCR4/CXCR7 信号通路均在前列腺癌中异常激活<sup>[24-25]</sup>。

## 2.4 当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病“中药材-核心成分-关键靶标-主要通路”多层次网络关联图构建与分析

选取 P 值排序前 30 位的候选关键靶标的 KEGG 通路, 构建当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病“中药材-核心成分-关键靶标-主要通路”多层次网络关联图, 见图 2。

分析结果显示当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病与 65 个成分 (当归 29 个、浙贝母 11 个、苦参 26 个, 其中有 1 个成分为当归和浙贝母的共有成分) 相关, 其中 29 个成分来自当归, 包括阿魏酸、伞形花内酯、豆甾醇、东莨菪素、肉豆蔻酸、香草醛、 $\beta$ -甜没药烯、2',4'-二羟基苯乙酮等; 11 个成分来自浙贝母, 包括对映-贝壳杉-16 $\beta$ ,17-二醇、apicidin、胆碱、9-羟基-10E,12Z-十八碳二烯酸等; 26 个成分来自苦参, 包括苦参皂苷 I、苦参皂苷 II、苦参新醇 K、

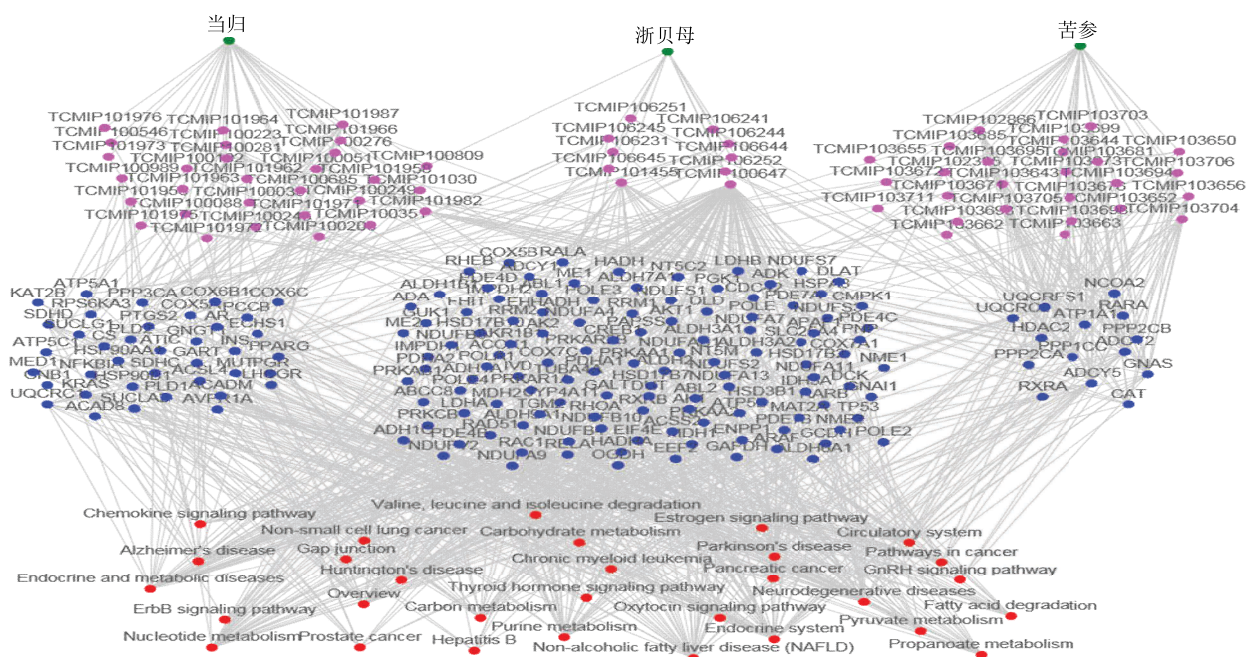


图 2 当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病“中药材-核心成分-关键靶标-主要通路”多层次网络关联图

Fig. 2 Multidimensional network of “herb-core component-key target-main pathway” of DBK Pills in treating prostatic disease

苦参查耳酮醇、刺芒柄花素等。所预测的 65 个核心成分与 ATP 结合、转录因子结合、凋亡负性调控等 166 个关键靶标相互作用，通过雌激素、促性腺激素释放激素、凋亡、趋化因子等信号通路，参与 BPH、前列腺癌以及慢性前列腺炎等发生发展过程中不同病理环节的调控。

### 3 结论

经方主要是指汉张仲景的《伤寒论》《金匮要略》中的方剂，与宋元以后出现的时方相对<sup>[26]</sup>，经过数千年的临床实践证实有确切疗效，用药精当、配伍严谨、毒副作用小，是方剂规范化、标准化的圭臬，其研究和发展对于揭示中药方剂的配伍规律意义重大。但中药成分复杂，配伍对方剂产生更为复杂的影响，经方的物质成分以及作用靶标等研究是经方研究的一个难点。中药整合药理学强调整体与局部结合、体外与体内结合、药代与药效结合，其整体性、系统性的特点与中药方剂多成分、多靶点的作用特点相符合，为经典名方研究开发提供了新的思路 and 有效方法<sup>[27-28]</sup>。

当归贝母苦参丸出自《金匮要略》，原用治妊娠小便难，基于中国知网数据库（CNKI），采用高级检索，以当归贝母苦参丸为主题，共检出相关文献 120 篇，其中 39 篇文献涉及前列腺疾病的治疗和研究。提示近现代医家临床扩展当归贝母苦参丸广泛

应用于前列腺炎、BPH、前列腺癌等治疗，但文献多为临床报道和疗效观察，尚缺乏对本方有效成分、关键靶标及作用机制的深入研究。本研究应用中药整合药理学计算平台（TCM-IP, V1.0），以方剂（中药）-成分-网络靶标-疾病多层次网络为框架，对当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的物质基础及分子机制进行了初步分析挖掘。

当归贝母苦参丸组成中药共同靶标分析结果显示方中 3 味中药间存在一定相互作用关系，且君药当归与他药之间的关联作用较为紧密，处于核心位置，与中医方剂组方配伍理论基本吻合。筛选出的直接治疗靶标雌激素受体、促性腺激素释放激素受体、 $\beta$  微管蛋白、凋亡信号分子等文献报道均与 BPH、前列腺癌的发生和发展相关，是治疗 BPH 和前列腺癌药物的重要靶点，在一定程度上证实了整合药理学方法进行经方作用机制研究具有可行性。为进一步明确关键靶标的生物学功能，对候选关键靶标进行基因功能和信号通路分析，并在此基础上构建了当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病“中药材-核心成分-关键靶标-主要通路”网络关联图，分析结果显示当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的核心成分，29 个来自当归，主要为羧酸类、酚类和苯丙素类；11 个成分来自浙贝母，主要为萜类、糖苷和生物碱；26 个成分来自苦参，主要为萜类和黄酮类。

这些核心成分单独或共同作用于转录因子结合、凋亡负性调控、细胞增殖调控以及老化等 GO 分子功能或生物学过程相关基因/蛋白,通过雌激素、促性腺激素释放激素、凋亡、趋化因子、VEGF 等信号通路,发挥调控细胞周期、干预细胞凋亡与增殖失衡、抑制血管新生以及抗炎等作用,这可能是当归贝母苦参丸干预 BPH、前列腺癌及慢性前列腺炎等疾病的主要分子靶点。现代药理学研究发现伞形花内酯、阿魏酸为类植物雌激素成分,已证实阿魏酸能够有效地抑制前列腺癌 PC-3 细胞的生长并促进其凋亡<sup>[29]</sup>;苦参黄酮部位有明显抑制斑马鱼胚胎血管新生的作用和一定抗肿瘤作用<sup>[30]</sup>,与预测结果相符合。

此外,当归贝母苦参丸预测关键靶标 KEGG 分析结果还涉及非小细胞肺癌(hsa05223)、小细胞肺癌(hsa05222)、胰腺癌(hsa05212)、结肠直肠癌(hsa05210)、膀胱癌(hsa05219)等多条肿瘤通路,这与文献研究结果亦相吻合,临床报道当归贝母苦参丸用治膀胱癌、肝癌等多种肿瘤<sup>[31-32]</sup>,这为经方当归贝母苦参丸临床新用、新药研发提供一定思路 and 依据。

本研究基于整合药理学思路和方法,利用 TCM-IP 对当归贝母苦参丸治疗前列腺疾病的物质基础及分子机制进行初步分析挖掘,发现当归贝母苦参丸是以多成分交互作用于多靶点,通过多通路参与调控 BPH、前列腺癌等疾病发生发展过程,从而发挥一定治疗作用。但预测分析获得的药效成分及可能分子机制还需要通过进一步的实验研究加以验证。

#### 参考文献

- [1] 黄海超,任存霞.经方治疗男科疾病临床发挥拾贝[J].内蒙古中医药,2015,34(10):30-31.
- [2] 黎慧,白玉梅,黎志远.黎志远应用当归贝母苦参丸验案三则[J].湖北中医杂志,2015,37(8):30-31.
- [3] 李学为.当归贝母苦参丸合六味地黄丸方加减治疗前列腺增生症体会[J].云南中医中药杂志,2014,35(9):99-100.
- [4] Wings D M,姚海强,李玲孺,等.国医大师王琦教授“三辨模式”论治前列腺疼痛综合征思路[J].中华中医药杂志,2016,31(9):3559-3562.
- [5] 李宜放,高向军,王晔星.王晔星应用当归贝母苦参丸治疗肿瘤的经验[J].山西中医,2011,27(12):4-5.
- [6] 许海玉,刘振明,付岩,等.中药整合药理学计算平台的开发与应用[J].中国中药杂志,2017,42(18):3633-3638.
- [7] 何仁.金匱要略新解[M].杭州:浙江科学技术出版社,1981.
- [8] 庞鹤,刘渡舟,苏宝刚.金匱要略论解[M].天津:天津科学技术出版社,1984.
- [9] 黄成然,陈钱,张春阳,等.雌激素及雌激素受体与良性前列腺增生症[J].中国男科学杂志,2015,29(8):62-65.
- [10] Bonkhoff H. Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression[J]. *Prostate*, 2018, 78(1): 2-10.
- [11] Lau K M, Laspina M, Long J, et al. Expression of estrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta in normal and malignant prostatic epithelial cells: Regulation by methylation and involvement in growth regulation[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(12): 3175-3182.
- [12] 罗刚.促性腺激素释放激素类似物抗前列腺癌的生物学效应及其作用机制[D].广州:中山大学,2008.
- [13] Sakai M, Elhilali M, Papadopoulos V. The GnRH antagonist degarelix directly inhibits benign prostate hyperplasia cell growth[J]. *Horm Metab Res*, 2015, 47(12): 925-931.
- [14] Bates D, Eastman A. Microtubule destabilising agents: Far more than just antimetabolic anticancer drugs[J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2017, 83(2): 255-268.
- [15] Lv G, Sun D, Zhang J, et al. Lx2-32c, a novel semi-synthetic taxane, exerts antitumor activity against prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, 7(1): 52-58.
- [16] 吕光耀. Lx2-32c 抗前列腺癌增殖活性及机制研究[D].烟台:烟台大学,2016.
- [17] 钟晓勇,洪振丰.凋亡调控基因的表达和良性前列腺增生症[J].医学综述,2011,17(20):3047-3050.
- [18] Jackson M W, Bentel J M, Tilley W D. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in prostate cancer and benign prostatic hyperplasia[J]. *J Urol*, 1997, 157(6): 2323-2328.
- [19] Sharif M R, Shaabani A, Mahmoudi H, et al. Association of the serum vascular endothelial growth factor levels with benign prostate hyperplasia and prostate malignancies[J]. *Nephrourol Mon*, 2014, 6(3): e14778.
- [20] 刘南京. miR-29c 通过抑制 VEGF/VEGFR2 信号通路促进前列腺癌 PC3 细胞凋亡[D].重庆:重庆医科大学,2017.
- [21] 李兴森,黄飏,吴文强,等.青藤碱对慢性非细菌性大鼠前列腺炎大鼠炎症反应及 P38MAPK 信号通路的影响[J].现代生物医学进展,2011,11(22):4244-4246.
- [22] 王强,陈宇东,刘艳如,等. p38MAPK 信号通路与前

- 列腺炎疼痛关系研究进展 [J]. 白求恩医学院学报, 2012, 10(4): 319-322.
- [23] 金 鹏, 王荫槐, 彭佑共, 等. PI3K/AKT抑制剂对前列腺增生的影响及机制研究 [J]. 中华男科学杂志, 2010, 16(12):1068-1075.
- [24] Butler D E, Marlein C, Walker H F, *et al.* Inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway activates autophagy and compensatory Ras/Raf/MEK/ERK signalling in prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 34(8): 56698-56713.
- [25] Saha A, Ahn S, Blando J, *et al.* Proinflammatory CXCL12-CXCR4/CXCR7 signaling axis drives myc-induced prostate cancer in obese mice [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(18): 5158-5168.
- [26] 夏征农. 辞海 [M]. 上海: 上海辞书出版社, 2002.
- [27] 李晓宇, 徐 男, 黄娜娜, 等. 整合药理学方法的心可舒片干预动脉粥样硬化作用网络机制探讨 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3463-3470.
- [28] Xu H Y, Shi Y, Zhang Y Q, *et al.* Identification of key active constituents of Buchang Naoxintong capsules with therapeutic effects against ischemic stroke by using an integrative pharmacology-based approach [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(1): 233-245.
- [29] 酒全帅. 阿魏酸对人前列腺癌 PC-3 细胞生长活性的影响 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2012.
- [30] 陈锡欣, 刘 怡, 黄 荣, 等. 苦参黄酮抑制血管新生活性成分的虚拟筛选 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(6): 1140-1145.
- [31] 闫德祺, 白雪峰, 刘群才. 加味当归贝母苦参丸辅助经肝动脉化疗栓塞术治疗原发性肝癌临床研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22(5): 33-36.
- [32] 段晓芳, 李斐斐. 孙宏新主任医师治疗肿瘤验案举隅 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2014, 12(14): 40-41.