

基于网络药理学的夏荔芪胶囊治疗良性前列腺增生的作用机制研究

邓楹君^{1,2}, 高庆和¹, 刘胜京¹, 赵丰¹, 杜冠潮¹, 郭俊¹, 王浩¹, 晏斌¹, 张继伟¹, 郭军^{1*}

1. 中国中医科学院西苑医院 男科, 北京 100091

2. 中国中医科学院研究生院, 北京 100700

摘要: **目的** 基于网络药理学探讨夏荔芪胶囊治疗良性前列腺增生的作用机制。**方法** 通过查询中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、BATMAN-TCM、Swiss 数据库获取夏荔芪胶囊的活性成分及作用靶点, 通过 Genecards、OMIM、中医药综合数据库(TCMID)获取治疗良性前列腺增生的作用靶点, 利用 R 软件获取药物和疾病共有靶点; 利用 STRING 平台对共有靶点构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络; 利用 R 软件对共有靶点进行基因本体(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析; 利用 Cytoscape 软件构建药物-成分-靶点-通路网络。**结果** 共得到夏荔芪胶囊活性成分 77 个、靶点 127 个, 良性前列腺增生作用靶点 929 个; 映射后得到夏荔芪胶囊作用于良性前列腺增生的潜在靶点 65 个, 与调节类固醇反应、氧化应激反应和凋亡信号通路等相关, 相关度较高的靶点为 $\alpha 1$ 型肾上腺素能受体($\alpha 1$ A-adrenergic receptor blocker, Alpha1)、5 α 还原酶(5 α -reductases, S5AR)、雄激素受体(androgen receptor, AR)、血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、雌激素受体 1(estrogen receptor 1, ESR1), 涉及磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)、p53 和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)信号通路。**结论** 夏荔芪胶囊可能通过抑制前列腺细胞增殖、舒张尿道平滑肌、促进前列腺细胞凋亡, 从而治疗良性前列腺增生。

关键词: 夏荔芪胶囊; 网络药理学; 良性前列腺增生; $\alpha 1$ 型肾上腺素能受体; 5 α 还原酶; 雄激素受体; 血管内皮生长因子 A; 雌激素受体 1

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2021)06-1681-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.06.017

Mechanism of Xialiqi Capsule on treating benign prostatic hyperplasia based on network pharmacology

DENG Ying-jun^{1,2}, GAO Qing-he¹, LIU Sheng-jing¹, ZHAO Feng¹, DU Guan-chao¹, GUO Jun¹, WANG Hao¹, YAN Bin¹, ZHANG Ji-wei¹, GUO Jun¹

1. Department of Andrology, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

2. Graduate School of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of Xialiqi Capsule (夏荔芪胶囊) on treating benign prostatic hyperplasia based on network pharmacology. **Methods** The active components and targets of Xialiqi Capsule were searched by TCMSP, BATMAN-TCM, and Swiss databases. The targets of benign prostatic hyperplasia were searched by GeneCards, OMIM, and TCMID databases. The common targets of Xialiqi Capsule and benign prostatic hyperplasia were screened by R software. Protein-protein interaction (PPI) network for common targets was constructed by String platform. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) enrichment analyses were carried out by R software. The drug-component-target-pathway network was established by Cytoscape. **Results** A total of 77 active components, 127 targets, and 929 disease targets were obtained. After mapping, 65 potential targets of Xialiqi Capsules for benign prostatic hyperplasia were obtained, which related to the regulation of steroid response, oxidative stress response and apoptosis signaling pathway. The targets of high correlation were $\alpha 1$ A-adrenergic receptor blocker (Alpha1), 5 α -reductases (S5AR), androgen receptor (AR), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), and estrogen receptor 1 (ESR1), involving phosphoinositide 3-kinase-protein kinase B (PI3K-Akt), p53, and mitogen-activated protein

收稿日期: 2020-11-17

基金项目: 国家自然科学基金基金培育项目(XY20-13); 中国中医科学院西苑医院苗圃课题项目(2019XYMP-23)

作者简介: 邓楹君, 女, 博士研究生, 研究方向为中西医结合生殖医学。E-mail: 1163104368@qq.com

*通信作者: 郭军, 男, 主任医师, 博士生导师, 研究方向为中西医结合防治男科疾病。Tel: (010)62835134 E-mail: guojun1126@126.com

kinases (MAPK) signaling pathways. **Conclusion** Xialiqi Capsule could treat benign prostatic hyperplasia through inhibiting prostate growth, relaxing of urethral smooth muscle, and promoting of prostate cell apoptosis.

Key words: Xialiqi Capsule; network pharmacology; benign prostatic hyperplasia; Alpha1; S5AR; AR; VEGFA; ESR1

良性前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 是中老年男性的常见病之一, 属于中医“精癯”“癯闭”范畴, 其病机为三焦失司、膀胱气化不利^[1]。随着我国老年化趋势加剧, BPH 发病率逐年升高。激素-内分泌、生长因子、细胞凋亡、胚胎唤醒等学说是目前较公认的 BPH 发病机制^[1-2], 临床治疗药物以 α 受体阻滞剂和 5 α 还原酶抑制剂为主。夏荔芪胶囊为石家庄以岭药业股份有限公司自主研发的国家中药 6 类新药, 主要由黄芪、黄柏、肉桂、夏枯草、女贞子等中药组成, 具有健脾益肾、化痰行瘀散结的功效, 临床用于治疗 BPH, 可有效改善患者下尿路症状并缩小前列腺体积^[3], 但其治疗 BPH 的具体机制尚不明确。网络药理学基于药物-成分-靶点-疾病网络, 通过可视化网络系统观察药物对疾病的干预方式, 符合中药复方治疗疾病的多成分、多靶点、多通路的特点, 本研究利用网络药理学方法, 探究夏荔芪胶囊活性成分与 BPH 靶点的相互作用, 为后续夏荔芪胶囊治疗 BPH 的作用机制提供参考。

1 方法

1.1 夏荔芪胶囊活性成分的筛选

通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP)、中医药综合数据库 (TCMID) 和中药分子机制的生物信息学分析工具 (BATMAN-TCM) 检索夏荔芪胶囊的活性成分。TCMSP 检索条件为药物口服生物利用度 $\geq 30\%$ 、药物相似性 ≥ 0.18 。在 PubChem 数据库中将收集到的活性成分进行确证, 将其标准化并下载 SMILES 序列。

1.2 夏荔芪胶囊活性成分的作用靶点及 BPH 靶点的获取

通过 Swiss 数据库筛选可能性 ≥ 0.9 的靶点。以“BPH”为关键词, 在 GeneCards、OMIM 数据库搜索并获得与 BPH 相关的靶点。

1.3 夏荔芪胶囊治疗 BPH 潜在靶点的获取

利用 R 软件, 将上述得到的夏荔芪胶囊靶点与 BPH 相关靶点映射, 得到夏荔芪胶囊治疗 BPH 的潜在作用靶点。

1.4 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络的构建

将潜在靶点导入 STRING 平台, 设置蛋白种

类为“Homo sapiens”、结合分值为 0.9, 构建夏荔芪胶囊治疗 BPH 的 PPI 网络。利用 Cytoscape 软件绘制 PPI 网络, 利用 cytoHubba 插件计算 PPI 网络每个节点的度值, 筛选夏荔芪胶囊治疗 BPH 的核心靶点。

1.5 富集分析

利用 R 软件对夏荔芪胶囊治疗 BPH 的核心靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。背景数据库和基因集限定物种为“Homo sapiens”, 阈值设置为 $P < 0.05$ 。

1.6 药物-成分-靶点-通路网络的构建

利用 Cytoscape 构建药物-成分-靶点-通路网络。

2 结果

2.1 夏荔芪胶囊治疗 BPH 潜在靶点的获取

通过筛选, 夏荔芪胶囊中获得 77 个活性成分; 通过 Swisstarget 数据库获得夏荔芪胶囊作用靶点 127 个, BPH 作用靶点 929 个。利用 R 软件, 将上述夏荔芪胶囊靶点与 BPH 靶点映射, 如图 1 所示, 得到 65 个夏荔芪胶囊治疗 BPH 的潜在靶点。

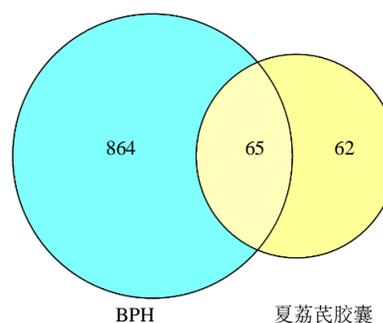


图 1 夏荔芪胶囊与 BPH 的共同靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of Xialiqi Capsule and BPH

2.2 PPI 网络分析

如图 2 所示, 与 BPH 相关度较高的靶点为 $\alpha 1$ 型肾上腺素能受体 ($\alpha 1$ A-adrenergic receptor blocker, Alpha1)、5 α 还原酶 (5 α -reductases, S5AR)、雄激素受体 (androgen receptor, AR)、血管内皮生长因子 (vascularendothelial growth factor A, VEGFA)、雌激素受体 (estrogen receptor, ESR1)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor,

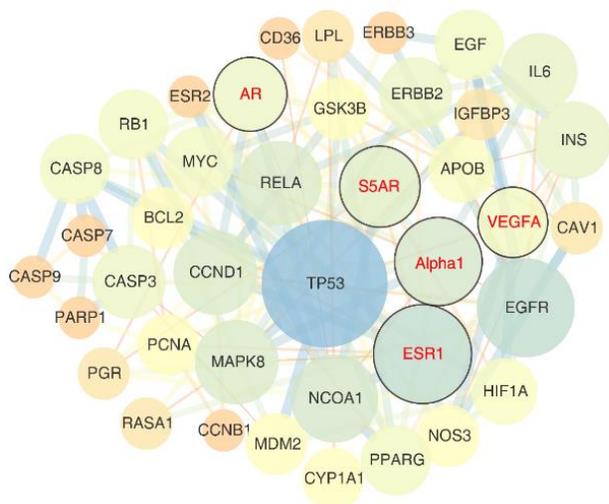


图2 核心靶点的 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of core targets

EGFR)、糖皮质激素受体(nuclear receptor subfamily 3 group C member 1, NR3C1)、RELA、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)。选取最低相互作用阈值大于 0.9 的靶点,利用 Cytoscape 软件和 R 软件得到频次排名前 20 的靶点,如图 3 所示。

2.3 GO 功能、KEGG 通路富集分析及药物-成分-靶点-通路网络的构建

GO 分析得到具有显著意义的 1621 个生物过

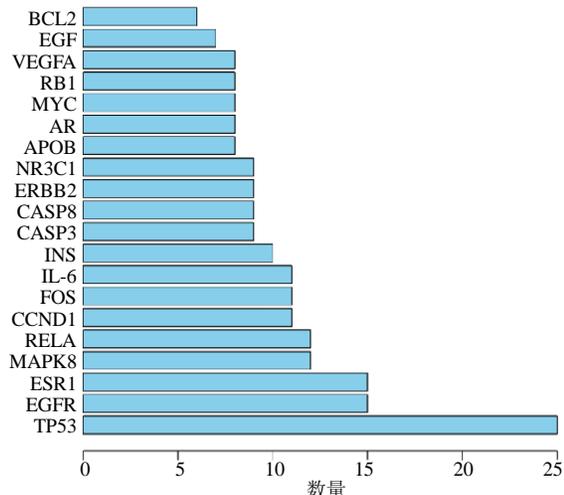


图3 频次排名前 20 的核心靶点

Fig. 3 Top 20 core targets by frequency

程,其中分子功能 1484 个,生物过程 41 个,细胞组分 96 个。前 20 条 GO 分析结果如图 4 所示,主要涉及类固醇反应(response to steroid hormone)、氧化应激(response to oxidative stress)、凋亡信号通路转导(regulation of apoptotic signaling pathway)等过程。KEGG 分析共得到 127 条具有显著意义的通路,前 20 条与 BPH 相关度较高的通路如图 5 所示,主要包括肿瘤、炎症、感染等。药物-成分-靶点-通路网络如图 6 所示。

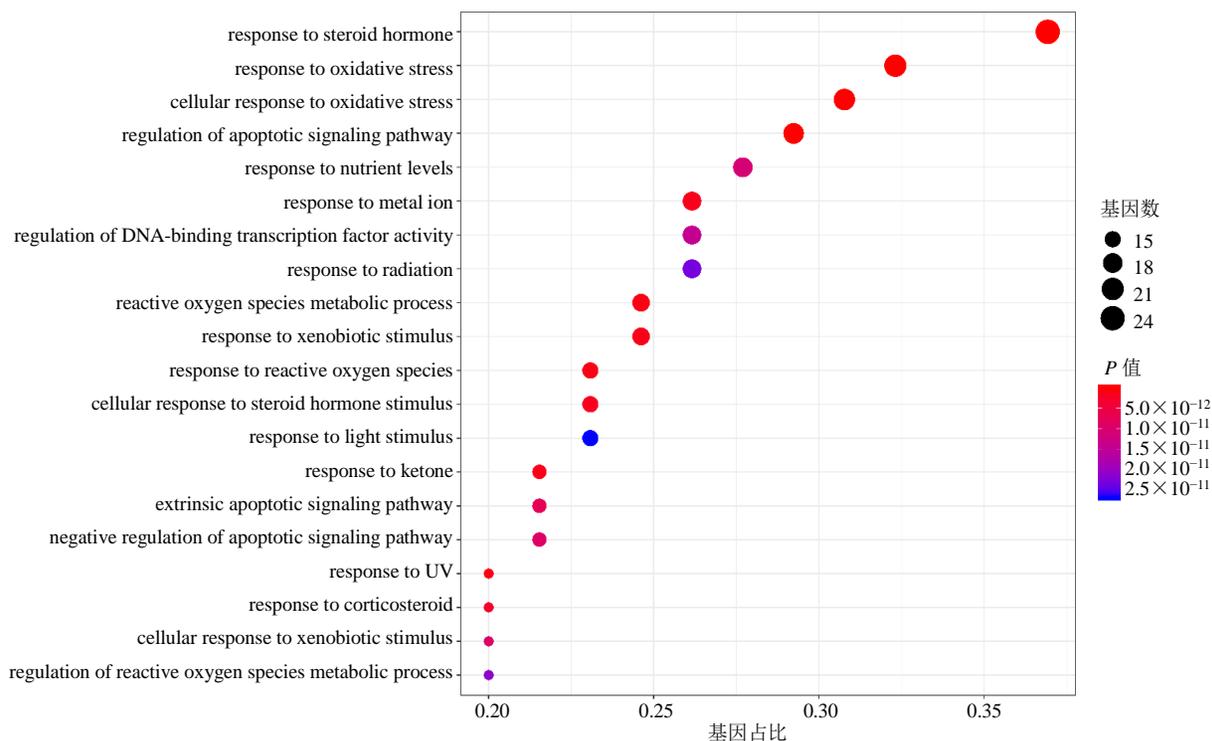


图4 核心靶点的 GO 分析

Fig. 4 GO analysis of core targets

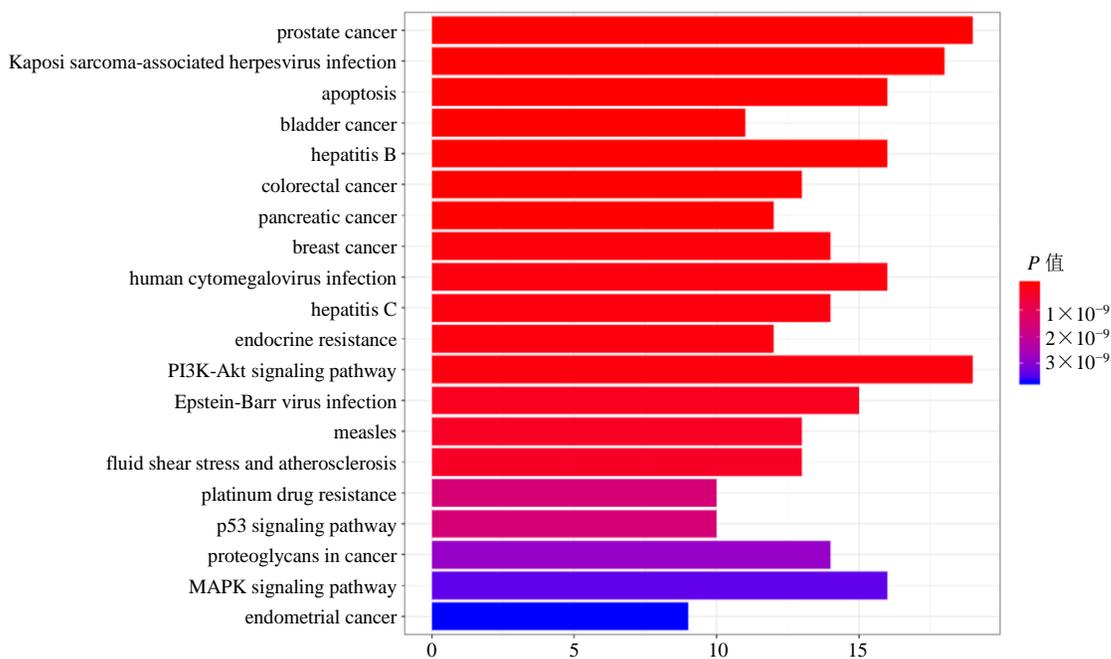
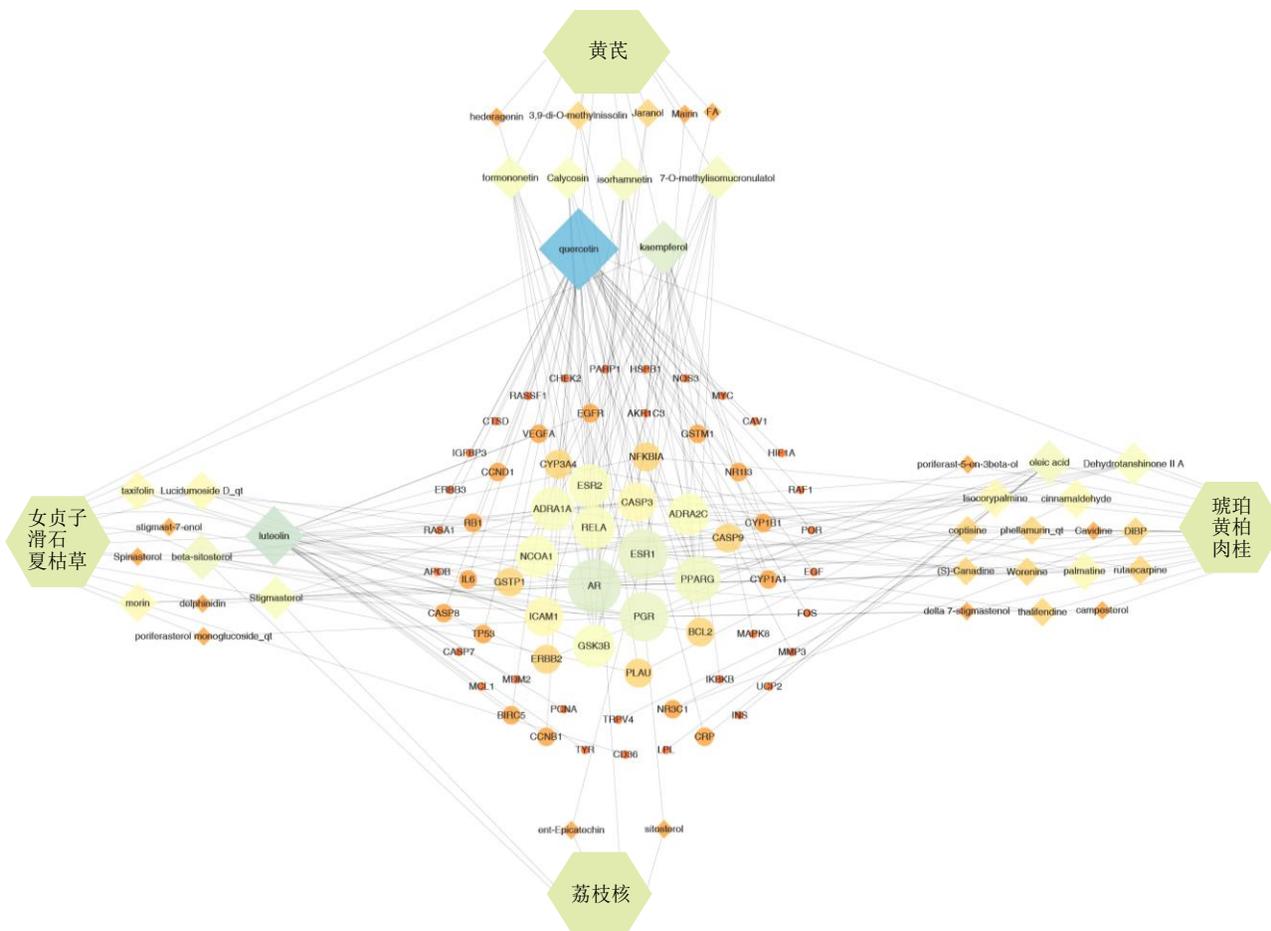


图5 核心靶点的 KEGG 分析

Fig. 5 KEGG analysis of core targets



六边形代表药物；菱形代表活性成分；圆形代表药物治疗 BPH 的潜在靶点

Hexagon represents drug; Diamond represents active ingredient; Circle represents potential target of drug to treat BPH

图6 药物-成分-靶点-通路网络

Fig. 6 Network of drug-component-target-pathway

3 讨论

夏荔芪胶囊由黄芪、女贞子、滑石、夏枯草、荔枝核、琥珀、肉桂、关黄柏 8 味药组成。君药黄芪味甘性温，入脾、肺经，为补气要药，有益气升阳、利水消肿之效；琥珀味甘性平，可入肝、膀胱经，有活血散瘀、利尿通淋之功效，古人即有单用以治疗淋证的记载；黄柏味苦性寒，入肾、膀胱经，可坚肾阴利水湿；肉桂为味厚甘辛大热、下行走里之物，有温运阳气之功，能温补命门之火，与黄柏配伍而达水火交济、平衡阴阳之功，3 药共为臣药；佐以女贞子、夏枯草、滑石，女贞子味苦性凉，补肝肾之阴精，夏枯草行滞散结，能消散精关之壅塞，滑石甘淡渗湿，可利精溺之窍、利水道而荡下焦之热；使药荔枝核归肝、肾经，能行气散结、祛寒止痛；诸药共奏健脾补肾、化痰行瘀散结之功，适用于脾肾气虚兼夹痰瘀的 BPH 患者。

本研究筛选得到夏荔芪胶囊活性成分 77 个，靶点 127 个，BPH 靶点 929 个，映射后得到夏荔芪胶囊作用于 BPH 的潜在靶点 65 个，体现了夏荔芪治疗 BPH 具有多成分、多靶点、多通路的特点。药物-活性成分-靶点-通路网络显示，夏荔芪胶囊中君药覆盖的靶点最多，主要活性成分为槲皮素 (quercetin) 和山柰酚 (kaempferol)；臣药其次，主要活性成分为木犀草素 (luteolin)；使药主要活性成分为黄连碱 (coptisine) 等。槲皮素、山柰酚和木犀草素均属于天然黄酮类化合物，对环氧合酶和 5 α 还原酶具有较强的抑制作用^[3-5]。木犀草素可降低 BPH 大鼠血清中双氢睾酮 (dihydrotestosterone, DHT) 水平，减少 DHT 蓄积，抑制 AR 表达，具有抗炎和促进前列腺细胞凋亡的作用，能明显抑制人前列腺增生细胞 BPH-1 活力^[6]。黄连碱具有较强的抗菌、抗炎作用，可通过抑制局部炎症反应，从而抑制前列腺增生^[7]。

夏荔芪胶囊治疗 BPH 的 PPI 网络显示，与 BPH 相关度较高的靶点有 Alpha1、S5AR、AR、VEGFA、ESR1 等。盆腔一氧化氮合酶/一氧化氮降低、自主神经过度活动、雄激素环境改变、局部炎症等均可导致 BPH 下尿路症状^[8-9]， α -肾上腺素能受体诱导的自主神经过度活动和雄激素刺激前列腺组织细胞生长是目前公认的主要发病机制。膀胱、前列腺、尿道分布着大量 α -肾上腺素能受体，当受到压力刺激时，会引起平滑肌张力增加，导致尿道的阻力增加，加重膀胱出口梗阻症状^[10]。夏荔芪胶囊可能通

过抑制 Alpha1 活性，舒张尿道平滑肌张力，减轻膀胱颈及尿道内压力，从而缓解排尿症状。雄激素睾酮被前列腺基质细胞和前列腺上皮细胞中的 5 α 还原酶抑制剂转化为更活跃的 DHT^[11]，DHT 和 AR 结合的亲和力更强，可通过激活 AR 表达直接或间接诱导前列腺基质细胞增殖和上皮细胞生长^[12]。研究发现，AR 表达缺陷的人群不会出现前列腺增生^[13]。夏荔芪胶囊可能通过抑制前列腺组织中 S5AR 活性，抑制睾酮向 DHT 转化，并作用于 AR 和 ESR1，降低血清、前列腺组织中睾酮和 DHT 水平，增加雌激素水平，调节雌雄激素比例^[14]，抑制 AR 和 ESR1 表达^[15]，从而抑制前列腺组织生长和增殖。前列腺增生伴随微血管密度增加^[16]，VEGFA 是最重要的调节血管内皮分化的正向调控因子^[17]。夏荔芪胶囊可能通过降低前列腺组织 VEGFA 表达水平，抑制前列腺新生血管形成。

GO 分析结果显示，夏荔芪胶囊可能通过对类固醇反应、氧化应激和凋亡信号通路的调节发挥治疗 BPH 的作用。结合 KEGG 分析结果，磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K) - 蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路、p53 信号通路和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路可能是夏荔芪胶囊治疗 BPH 的主要途径。PI3K-Akt 诱导细胞有丝分裂、生长和转化，与前列腺癌、卵巢癌等多种肿瘤的发生相关^[18]，阻断 PI3K-Akt 信号通路能抑制前列腺增生^[19]。p53 是调节细胞凋亡的基因，在 BPH 患者前列腺组织中呈高表达^[20-21]。MAPKs 与细胞增殖、分化密切相关，分为细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinases 1 and 2, ERK1/2) 通路、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 通路和 p38 MAPK 通路^[21]。BPH 患者前列腺上皮和基质组织中 ERK1/2 呈高表达^[22-23]。表明夏荔芪胶囊可能通过调节前列腺组织细胞生长、增殖和凋亡，从而抑制前列腺增生。

研究表明，夏荔芪胶囊能有效降低 BPH 大鼠前列腺体积，减少血清和前列腺中 DHT 水平，抑制前列腺组织中增殖细胞核抗原、碱性成纤维细胞生长因子、IL-8、肿瘤坏死因子- α 表达，促进前列腺组织中半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3, CASP3) 表达^[24-25]；夏荔芪胶囊可通过抗炎、抗氧化、抗细胞增殖、促凋亡等机制缓解 BPH 患者下尿路症状^[26]，与本研究网络药理学分析的结果一致，表明夏荔芪

胶囊通过多通路、多靶点治疗 BPH。

综上所述,夏荔芪胶囊中的槲皮素、山柰酚、木犀草素、黄连碱等活性成分可能通过作用于 Alpha1、S5AR、AR、ESR1、VEGFA 靶点,调控 PI3K-Akt、p53、MAPK 等信号通路,抑制前列腺生长、舒张尿道平滑肌和促进前列腺细胞凋亡,从而治疗 BPH。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 郭军,焦拥政,耿强. 中医泌尿男科学 [M]. 郑州:河南科学技术出版社,2020:20.
- [2] 朱圣生,吴建辉,孙祖越. 良性前列腺增生发病机制的研究进展 [J]. 毒理学杂志,2013,27(5):387-390.
- [3] 高筱松,吴佳寅,韩万峰,等. 夏荔芪胶囊治疗良性前列腺增生多中心双盲双模拟阳性药对照试验研究 [J]. 北京中医药,2020,39(7):745-749.
- [4] 杨必成,杨义芳. 治疗良性前列腺增生的天然药物研究进展 [J]. 中草药,2009,40(12):2000-2005.
- [5] 李永辉,杨义芳,孔德云. 植物中抑制 5 α -还原酶的活性成分研究进展 [J]. 中草药,2006,37(11):1740-1744.
- [6] 谯旭芳. 榉树 (*Zelkova serrata*) 抗前列腺增生组分提取优化及其药理研究 [D]. 重庆:西南大学,2020.
- [7] 杨勇,叶小利,李学刚. 4 种黄连生物碱的抑菌作用 [J]. 时珍国医国药,2007,18(12):3013-3014.
- [8] Gacci M, Eardley I, Giuliano F, et al. Critical analysis of the relationship between sexual dysfunctions and lower urinary tract symptoms due to benign prostatic hyperplasia [J]. *Eur Urol*, 2011, 60(4): 809-825.
- [9] Andersson K E, de Groat W C, McVary K T, et al. Tadalafil for the treatment of lower urinary tract symptoms secondary to benign prostatic hyperplasia: Pathophysiology and mechanism(s) of action [J]. *Neurourol Urodyn*, 2011, 30(3): 292-301.
- [10] 刘婧,付小梅,吴建华,等. α_1 -肾上腺素受体拮抗剂类药物治疗前列腺增生症的研究进展 [J]. 中国医药科学,2014,4(13):38-43.
- [11] Aaron L, Franco O E, Hayward S W. Review of prostate anatomy and embryology and the etiology of benign prostatic hyperplasia [J]. *Urol Clin North Am*, 2016, 43(3): 279-288.
- [12] 刘念,刘向云. Androgen/AR 信号通路在良性前列腺增生中的研究进展 [J]. 中国细胞生物学报,2020,42(9):1669-1675.
- [13] Vickman R E, Franco O E, Moline D C, et al. The role of the androgen receptor in prostate development and benign prostatic hyperplasia: A review [J]. *Asian J Urol*, 2020, 7(3): 191-202.
- [14] 陈金海,胡万里,程蓓. 雌/雄激素比例变化对大鼠前列腺基质细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 武汉大学学报:医学版,2012,33(5):623-626.
- [15] 杨安平,刘辉,范丽霞,等. 基于网络药理学探讨桂枝茯苓丸治疗良性前列腺增生的作用机制 [J]. 中药材,2020,43(6):1460-1465.
- [16] Walsh K, Sriprasad S, Hopster D, et al. Distribution of vascular endothelial growth factor (VEGF) in prostate disease [J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2002, 5(2): 119-122.
- [17] 蓝儒竹,胡志全,庄乾元,等. 非那雄胺对前列腺增生组织中微血管密度调控的机制探讨 [J]. 华中科技大学学报:医学版,2009,38(5):703-706.
- [18] Hu L, Zaloudek C, Mills G B, et al. *In vivo* and *in vitro* ovarian carcinoma growth inhibition by a phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor (LY294002) [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(3): 880-886.
- [19] 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.
- [20] 陈刚,唐伟. Clusterin、bcl-2 及 p53 在前列腺上皮组织中的表达及相关性研究 [J]. 第三军医大学学报,2004,26(17):1573-1575.
- [21] 方志启. 前列腺增生和前列腺癌细胞增殖与凋亡相关蛋白的表达及相关性 [D]. 合肥:安徽医科大学,2007.
- [22] 张立春. 前列腺增生及癌组织中有丝分裂蛋白激酶 (MAPK) 表达的研究 [D]. 沈阳:中国医科大学,2003.
- [23] 李凯,张立春,王平. 丝裂素激活蛋白激酶在良性前列腺增生中的表达及临床意义 [J]. 解剖科学进展,2005,11(3):203-205.
- [24] 蔡鸿财,宋乐彬,张国巍,等. 夏荔芪胶囊对良性前列腺增生模型大鼠 PCNA、caspase-3 表达水平的影响 [J]. 中华男科学杂志,2017,23(8):728-733.
- [25] 蔡鸿财. 夏荔芪胶囊对大鼠良性前列腺增生的疗效及初步机制探讨 [D]. 广州:南方医科大学.
- [26] Cai H C, Zhang G W, Yan Z C, et al. The effect of Xialiqi Capsule on testosterone-induced benign prostatic hyperplasia in rats [J]. *Evid Based Compl Alter Med*, 2018, 2018: 5367814.

[责任编辑 李亚楠]