

基于网络药理学和分子对接法探讨黄芪治疗前列腺癌的机制

程晓金¹, 王春洋¹, 牛潇菲¹, 陆莹¹, 李小江^{2*}

¹天津中医药大学第一附属医院, 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津

²天津中医药大学第一附属医院, 天津

收稿日期: 2022年8月21日; 录用日期: 2022年9月15日; 发布日期: 2022年9月23日

摘要

运用网络药理学与分子对接探索黄芪治疗前列腺癌的作用机制。方法: 通过借助中药系统药理学数据库及分析平台(TCMSP)筛选黄芪的成分及作用靶点, 使用OMIM和GeneCards数据库筛选HT靶点; 采用Cytoscape软件构建化学成分-潜在靶点网络图和蛋白相互作用网络图, 进而筛选出关键靶点, 借助DAVID数据库对靶点进行GO分析和KEGG通路分析; 使用AutoDock Vina进行分子对接, 初步筛选并进一步验证黄芪中的核心化学成分。结果: 从黄芪中得到16个活性化合物及; 筛选出与前列腺癌相关作用靶点172个; 黄芪可以通过调节AGE-RAGE信号通路、PI3K-Akt信号通路、IL-17信号通路、MAPK信号通路、肿瘤坏死因子信号通路等对前列腺癌发挥治疗作用。其中CCND1、MYC、MAPK1、AKT1、ESR1、TNF、RELA、TP53、RB1、IL6、JUN、FOS、MAPK14等基因可能为关键靶点; 分子对接结果显示: 槲皮素与FOS蛋白的亲合力较好。结论: 黄芪治疗前列腺癌的潜在作用机制具有多成分-多靶点-多通路的特点, 为阐述黄芪治疗前列腺癌的作用机制和开展进一步研究提供依据。

关键词

黄芪, 前列腺癌, 网络药理学, 分子对接

Exploring the Mechanism of *Astragalus membranaceus* in the Treatment of Prostate Cancer Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

Xiaojin Cheng¹, Chunyang Wang¹, Xiaofei Niu¹, Ying Lu¹, Xiaojiang Li^{2*}

*通讯作者。

文章引用: 程晓金, 王春洋, 牛潇菲, 陆莹, 李小江. 基于网络药理学和分子对接法探讨黄芪治疗前列腺癌的机制[J]. 临床医学进展, 2022, 12(9): 8695-8706. DOI: 10.12677/acm.2022.1291255

¹National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin

²The First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin

Received: Aug. 21st, 2022; accepted: Sep. 15th, 2022; published: Sep. 23rd, 2022

Abstract

Objective: Using network pharmacology and molecular docking to explore the mechanism of *Astragalus membranaceus* in the treatment of prostate cancer. **Methods:** The components and action targets of *Astragalus membranaceus* were screened by the pharmacological database and analysis platform (TCMSP), and the HT targets were screened by OMIM and GeneCards database. Cytoscape software was used to construct the chemical components-potential target network and protein interaction network, and then the key targets were screened out. The GO analysis and KEGG pathway analysis of the targets were performed with the help of DAVID database. AutoDock Vina was used for molecular docking to preliminarily screen and further to verify the core chemical components in *Astragalus membranaceus*. **Results:** Sixteen active compounds were obtained from *Astragalus membranaceus*. 172 targets related to prostate cancer were screened out. *Astragalus membranaceus* can play a therapeutic role in prostate cancer by regulating AGE-RAGE signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, IL-17 signaling pathway, MAPK signaling pathway, tumor necrosis factor signaling pathway, etc. Among them, CCND1, MYC, MAPK1, Akt1, ESR1, TNF, RELA, TP53, RB1, IL6, Jun, FOS, MAPK14 and other genes may be key targets. The results of molecular docking showed that quercetin had a good affinity with FOS protein. **Conclusion:** The potential mechanism of *Astragalus membranaceus* in the treatment of prostate cancer has the characteristics of multi-component, multi-target and multi-pathway, which provides the basis for further study on the mechanism of *Astragalus membranaceus* in the treatment of prostate cancer.

Keywords

Astragalus membranaceus, Prostate Cancer, Network Pharmacology, Molecular Docking

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

前列腺癌(Prostate cancer, PCa)已成为男性泌尿生殖系统中最常见的恶性肿瘤之一,也在男性癌症患者死亡原因中排名第二[1]。早期前列腺癌患者缺乏特异的临床症状,一般较隐匿,临床上主要表现为尿频,尿急、夜尿增多、尿流细弱等症状并与前列腺增生临床症状类似;当出现明显的症状时,疾病多发展至中晚期[2]。由于前列腺癌属于激素内分泌性疾病,雄激素受体在前列腺癌发生中有重要作用,因此雄激素剥夺疗法是临床前列腺癌治疗常见方式[3] [4]。然而被称为“隐秘的杀手”的前列腺癌临床极易发生骨转移,多数患者初诊时即失去了根治性治疗的机会[5]。目前西医以内分泌治疗为主,发展为去势抵抗性前列腺癌的中位时间约为 14~30 个月[6]。祖国医学从整体观念和辨证论治出发,针对前列腺癌的不同阶段采取不同治则,如局限期以扶正抗癌、整体调节为主,局部晚期以增效减毒、稳定病灶为主,转移性 PCa 以抑制转移、延长激素敏感时间为主,去势抵抗性 PCa 则以延长生存时间、提高生活质量为主。

目前多项临床试验表明中医药在前列腺癌治疗中不仅能提高患者生活质量、减少药物不良反应，同时可延缓疾病的进展，延长患者的生存时间[7] [8] [9]。因此，传统中医药已成为当下前列腺癌的研究热点[10]。

前列腺癌的病程较长，通过病例 - 对照研究方法回顾性分析发现中医证型多表现为脾肾亏虚型[11]。通过流行病学临床调查研究方法，通过对 214 例前列腺癌患者的中医体质特点进行统计分析发现，气虚质为前列腺癌患者最主要的中医体质[12]，患者主要表现为神疲乏力、气短懒言、腹胀纳呆，舌苔多见薄白腻，脉多细滑，病情严重者可出现颜面及四肢浮肿、精神萎靡、嗜睡、记忆力减退等症状，提示本病的主要病机气虚湿困，以脾虚为本[13]。《本草纲目》言：“脾胃一虚，肺气先绝，必用黄芪温分肉、益皮毛、实腠理，不令汗出，以益元气而补三焦。”黄芪味甘，气微温，归肺、脾经，功效为补气、祛湿消肿，故与黄芪辨治前列腺癌药证相契合。研究显示，中药黄芪的内含活性物质作用于人体的先天免疫和特异性免疫，起到抗病毒、抗衰老、抗肿瘤等多种生物功能而被广泛关注[14] [15]。结合本实验组的前期对“健脾利湿化痰法”治疗中晚期前列腺癌内分泌治疗后部分雄激素缺乏综合征的临床实验观察研究显示可有效减缓疾病进展，改善临床症状，降低肿瘤标志物水平，减轻内分泌治疗相关的不良反应[16]，但其确切机制尚未完全阐明。

近年来，网络药理学因其系统性和整体性的特点被广泛用于筛选中药有效成分、阐释作用机制和揭示方剂配伍原理为复杂中药体系的研究提供了新思路[17]。而分子对接方法作为计算机辅助药物分子设计中的一类主要方法，已被广泛应用于中草药药效作用与机制探索[18]。本研究以网络药理学和分子对接技术为基础，探索黄芪治疗前列腺癌的可能药效机制，旨在为黄芪的临床应用及前列腺癌的防治研究提供新思路。

2. 治疗与方法

2.1. 化学成分收集与筛选

采用 TCMSp [19] (中药系统药理学数据库和分析平台 <https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)检索出黄芪成分的数据，通过药物动力学参数口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和药物相似性(drug-like properties, DL) ≥ 0.18 进行筛选[20] [21]。

2.2. 潜在靶点的预测

利用 TCMSp 数据库对药物成分的检索和整理，获得黄芪活性化合物作用靶点。在 GeneCards (人类基因综合数据库, <http://www.genecards.org/>)和 OMIM (人类孟德尔遗传数据库, <https://omim.org>)和 PharmGkb (药物基因组学知识库, <https://www.pharmgkb.org/>)和 TTD (疗效药靶数据库 <http://db.idrblab.net/ttd/>)和 DrugBank (生物信息学和化学信息学数据库 <https://www.drugbank.ca/>)中输入关键词 Prostate cancer, 查找收集已有研究的前列腺癌相关蛋白, 限定物种为人, 输入到 Uniprot (蛋白数据库, <https://www.UniProt.org>)中, 将其转化为与蛋白相对应的编码基因。

2.3. “中药 - 化学成分 - 靶点”网络构建与分析

运用 R 语言 VennDiagram 包筛选出黄芪和前列腺癌的共同作用靶点, 并得到靶点所对应的所有化学成分, 将筛选出来的数据导入 Cytoscape Version 3.7.2 (生物信息分析软件, <https://cytoscape.org/>), 绘制“中药 - 化学成分 - 潜在靶点”网络图。

2.4. 蛋白互作(PPI)网络分析

利用 String (蛋白互作网络分析数据库, <https://string-db.org/>)构建蛋白互作网络图(protein protein in-

teraction network, PPI network), 限定物种为人, 借助 cytoHubba 插件计算节点间相互作用程度数值(degree, DC)并统计分析。

2.5. 靶点的通路分析

将黄芪作用于前列腺癌的潜在靶点导入 DAVID (生物学信息注释数据库, <https://david.ncifcrf.gov/>), 进行 GO (基因本体, <http://geneontology.org/>)和 KEGG (京都基因与基因组百科全书, <https://www.kegg.jp/>)通路富集分析, 保存结果。并按照涉及的靶点数目多少进行排序, 筛选排名靠前的生物过程或通路, 用 Barplot 绘制条形图。

2.6. 分子对接

采用 ChemBioDraw Ultra 14.0 画出筛选得到化学成分的结构, 同时转化为三维结构, 并使用 MMFF94 力场进行优化。相关关键靶点蛋白的三维结构从 RCSB Protein Data Bank (<http://www1.rcsb.org/>)下载得到, 并作为分子对接所用的蛋白。小分子化合物均使用 AutodockTools 1.5.6 (分子对接软件, <http://vina.scripps.edu/>)转化为 PDBQT 格式。采用 AutoDock Vina 1.1.2 进行分子对接研究。根据原配体的位置, 确定了这几个蛋白的活性位点, 为了增加计算的准确度, 将参数 exhaustiveness 设置为 40。除了特别说明, 其他参数均采用默认值。通过分子对接得到 11 种活性成分与 5 种蛋白的结合能数值后, 将数据导入 Graphpad 8.0 绘制黄芪中化学成分分子对接结果。选取打分值最高的构象用 Free Maestro 11.9 进行结果分析。

3. 结果

3.1. 化学成分的收集与筛选

本研究通过 TCMSP 数据库和相关文献查阅, 共检索到黄芪所有成分 20 个见表 1。

Table 1. Basic information of some active ingredients in *Astragalus membranaceus*

表 1. 黄芪成分中部分有效成分的基本信息

编号	分子 ID	化合物	OB/%	DL
1	MOL000398	异黄酮(isoflavanone)	109.99	0.3
2	MOL000378	7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.3
3	MOL000392	芒柄花素(formononetin)	69.67	0.21
4	MOL000433	叶酸(FA)	68.96	0.71
5	MOL000438	(3R)-3-(2-hydroxy-3,4-dimethoxyphenyl)chroman-7-ol	67.67	0.26
6	MOL000380	(6 α R, 11 α R)-rel-6 α ,11 α -二氢-9-甲氧基-6H-苯并呋喃并[3,2-c]苯并吡喃-3-醇	64.26	0.42
7	MOL000211	丁香香萜(mairin)	55.38	0.78
8	MOL000371	3,9-di-O-methylisolin	53.74	0.48
9	MOL000239	熊竹素(jaranol)	50.83	0.29
10	MOL000354	异鼠李素(isorhamnetin)	49.6	0.31
11	MOL000439	异微凸剑叶莎醇-7,2'-二-O-葡萄糖苷	49.28	0.62
12	MOL000417	毛蕊异黄酮(calycosin)	47.75	0.24
13	MOL000098	槲皮素(quercetin)	46.43	0.28

Continued

14	MOL000422	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯	41.88	0.24
15	MOL000374	5'-羟基异微凹剑叶莎醇-2',5'-二-O-葡萄糖苷	41.72	0.69
16	MOL000442	1,7-二羟基-3,9-二甲氧基紫檀烯	39.05	0.48
17	MOL000296	常春藤皂苷元(hederagenin)	36.91	0.75
18	MOL000379	9,10-二甲氧基紫檀烷-3-O- β -D-葡萄糖苷	36.74	0.92
19	MOL000033	2-甲基-3-丙-2-基环丙基[丙-2-基]-2,3,4,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十二氢-1H-环戊二烯并[a]菲-3-醇	36.23	0.78
20	MOL000387	联苯双酯(bifendate)	31.1	0.67

注：OB 为生物利用度，DL 为药物相似性。

3.2. 潜在靶点的预测

利用 TCMSp 作为靶点预测模型，获得上述成分的作用靶点 953 个。通过 OMIM 数据库、TTD 数据库、PharmGkb 数据库、DrugBank 数据库检索，获得前列腺癌疾病相关靶点，删除重复靶点，共得到前列腺癌疾病靶点 12,279 个，将所得靶点信息进行基因名标准化并见图 1。

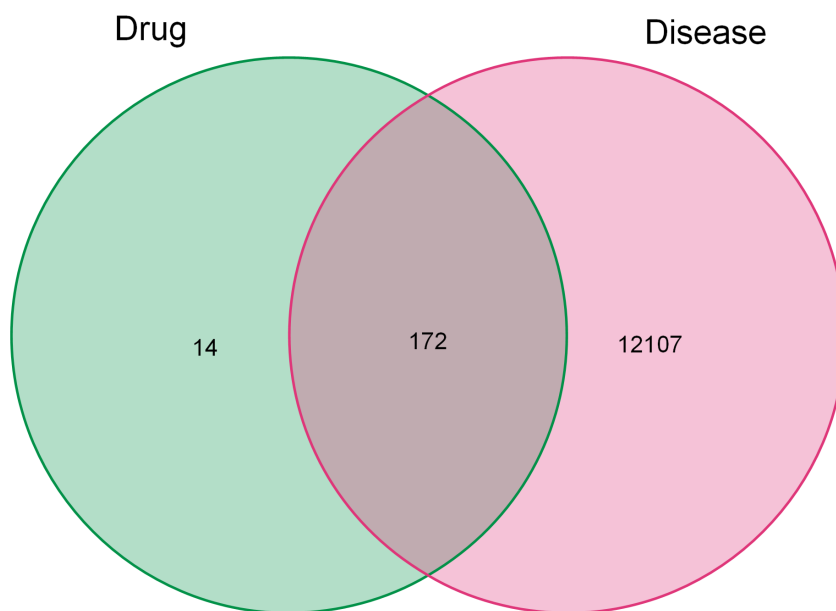


Figure 1. Matching of disease target genes with drug target genes
图 1. 疾病靶点基因与药物靶点基因的匹配

3.3. “中药 - 化学成分 - 潜在靶点”网络结构分析

通过将黄芪活性化合物与前列腺癌疾病靶点进行映射找交集，去除与前列腺癌疾病靶点无关的活性化合物，选出共同的疾病靶点，最终得到 16 个活性化合物及与其相对应的 172 个疾病靶点。采用 Cytoscape 软件构建“中药 - 化学成分 - 靶点”网络模型。该网络有 188 个节点(包括 1 个中药、16 个成分、172 个靶点和 1 个疾病)和 179 条边。其中红色表示黄芪主要成分，绿色方块表示成分对应前列腺癌治疗的相关靶点。充分说明中药黄芪具有多成分、多靶点、多通路共同作用对前列腺癌疾病达到治疗目的并见图 2。

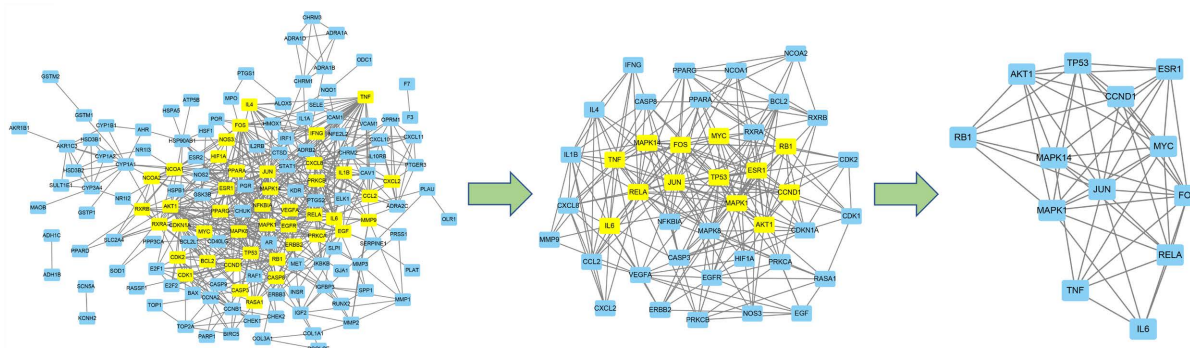


Figure 2. “Astragalus-chemical composition-potential target” network diagram

图 2. “黄芪 - 化学成分 - 潜在靶点” 网络图

3.4. 蛋白互作用网络分析

PPI 网络中共含有 636 个节点，网络中全部节点按照 DC 值大小由内向外来呈现。将网络蛋白互作网络全部节点，导入 Cytoscape 进行分析，借助 CytoNCA 插件对 Betweenness、Closeness、Degree 打分进行统计计算。最终筛选出前 13 个关键靶点蛋白，分别是 CCND1、MYC、MAPK1、AKT1、ESR1、TNF、RELA、TP53、RB1、IL6、JUN、FOS、MAPK14，表明这 13 个核心靶点在前列腺癌疾病发生中有重要作用，所有蛋白之间的相互作用关系见图 3。

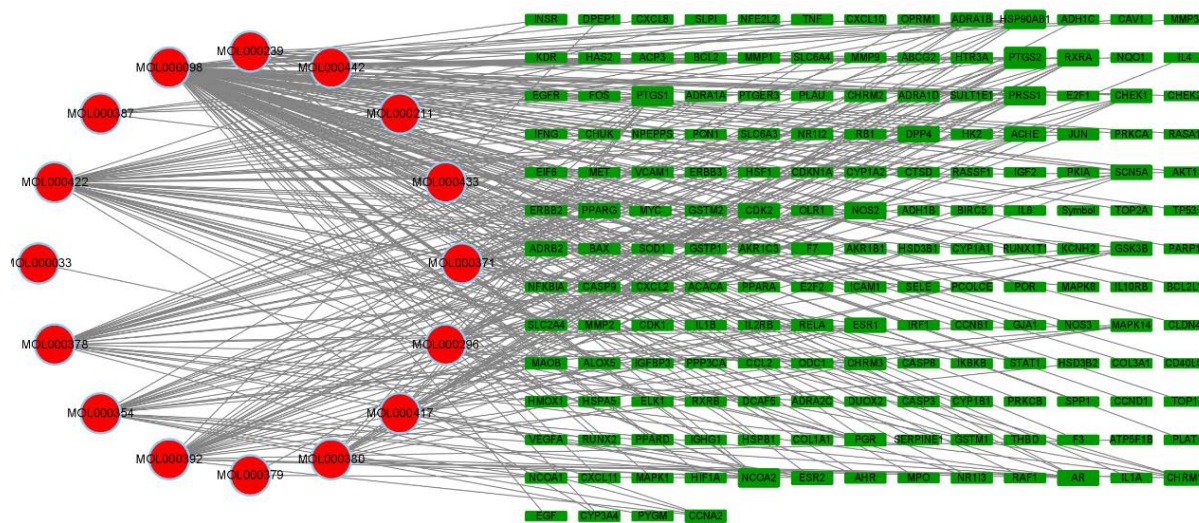


Figure 3. Protein-protein interaction network

图 3. 蛋白 - 蛋白互作网络

3.5. 靶点的通路分析

将筛选得到的 172 个相关靶点进行 GO 分析和 KEGG 通路分析。结果见图 4 和图 5。GO 富集分析包括生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)和细胞组分(cellular component, CC) 3 个成分，共富集到 172 个生物过程和 2638 条相关通路($P < 0.05$)，筛选排列靠前的生物过程依次为细胞对化学应激的反应(cellular response to chemical stress)、对药物的反应(response to drug)、氧化应激反应(response to oxidative stress)、对脂多糖的反应(response to lipopolysaccharide)、对细菌来源分子的反应(response to molecule of bacterial origin); 相关富集通路主要涉及 PI3K-Akt 信号通路(PI3K-Akt signaling

pathway)、IL-17 信号通路(IL-17 signaling pathway)等、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)、肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway)及晚期糖基化终产物受体与配体晚期糖基化终产物在糖尿病并发症中的信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)。

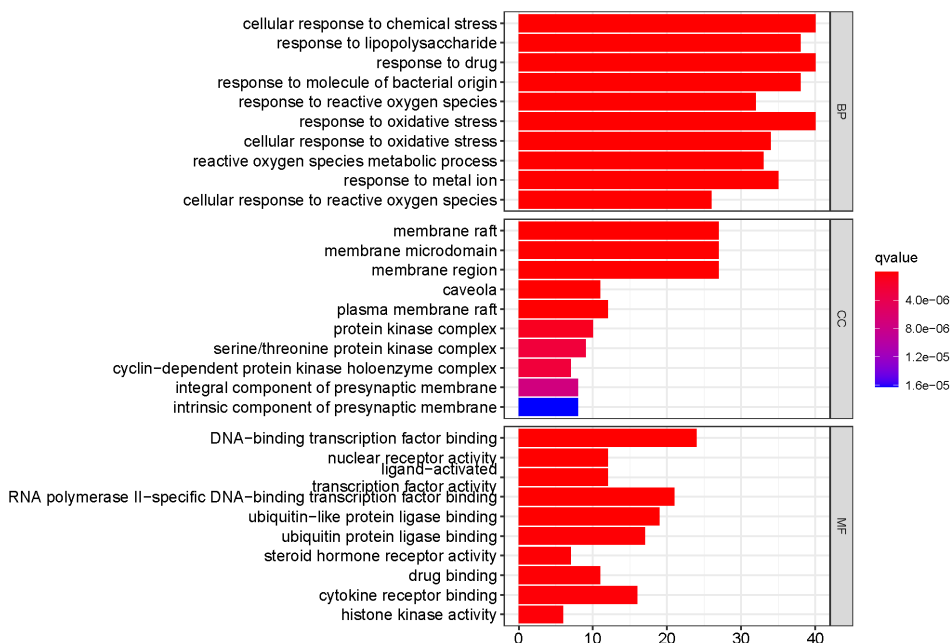


Figure 4. GO enrichment analysis of astragalus components in treating prostate cancer targets
图 4. 黄芪成分治疗前列腺癌靶点的 GO 富集分析

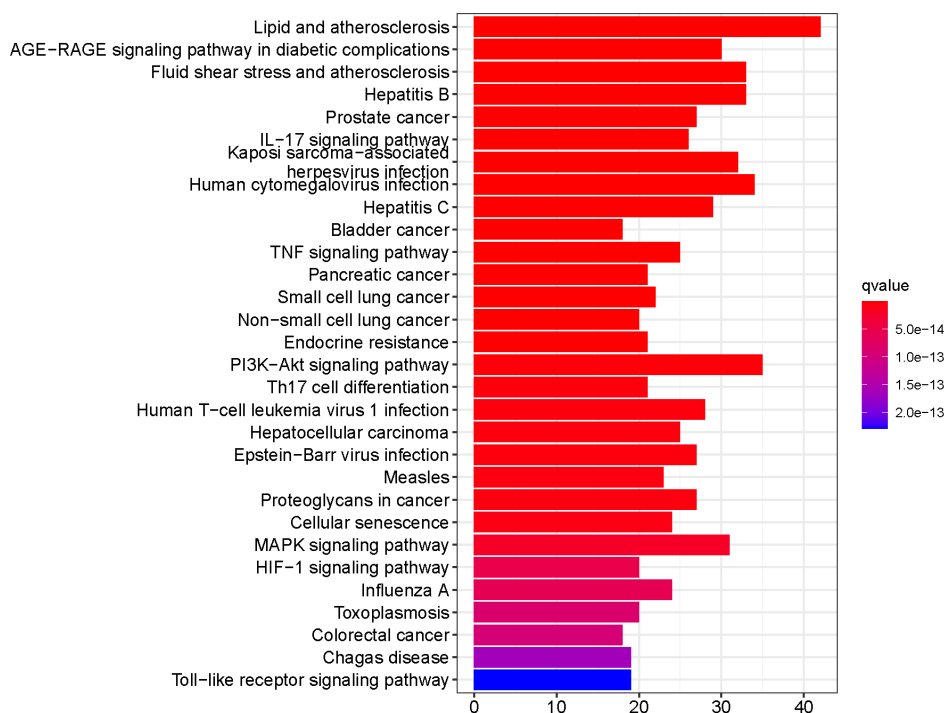


Figure 5. KEGG pathway analysis of *Astragalus membranaceus* in the treatment of prostate cancer
图 5. 黄芪成分治疗前列腺癌靶点的 KEGG 通路分析

3.6. 分子对接分析

通过对化合物的不同靶蛋白亲和力分析, 获得相关亲和力数据如表 2, 确定靶蛋白的活性位点三位坐标中心, 计算得到所有结合能数值后绘制分子热图。亲和力 < -5 认为有较好的结合活性, 亲和力 < -7 则具有强烈的结合活性。一般认为配体与受体结合能越低, 构象就越稳定, 发生作用的可能性也就越大。TP53、CCND1、FOS、TNF、AKT1、ESR1、JUN 分别与槲皮素(Quercetin)山柰酚(kaempferol)、异黄烷酮(isorhamnetin)、芒柄花素(formononetin)有较好的结合活性并筛选亲和力较强的靶蛋白和化合物并对接至关键蛋白的活性位点如图 6。

Table 2. Heat map of molecular docking results of *Astragalus membranaceus*

表 2. 黄芪化学成分分子对接结果热图

化合物	靶蛋白	亲和力
Quercetin (槲皮素)	TP53	-8.3
	RB1	-5.9
	CCND1	-7.6
	MYC	-3.8
	MAPK1	-6.7
	IL6	-6.6
	FOS	-10.1
Kaempferol (山柰酚)	TNF	-8.5
	RELA	-6.9
	AKT1	-8.6
Isorhamnetin (异黄烷酮)	MAPK14	-7.4
	ESR1	-8.5
Formononetin (芒柄花素)	JUN	-7.9

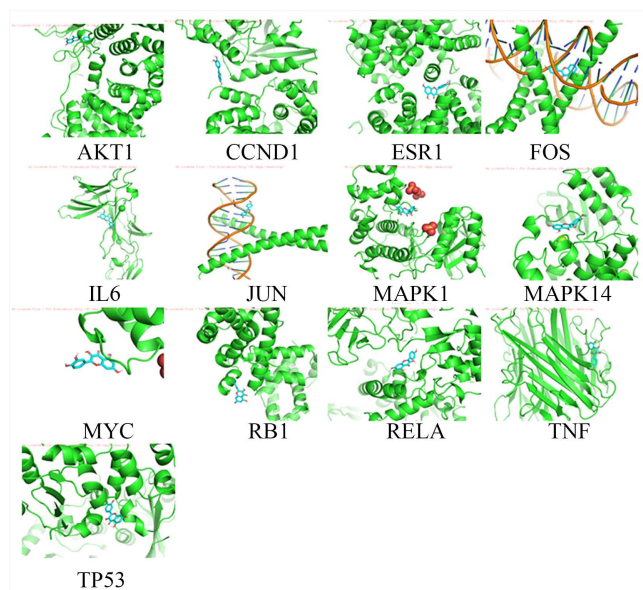


Figure 6. Molecular docking diagram

图 6. 分子对接示意图

4. 讨论

近年来,全球男性发病率最高的前列腺癌[22]对于男性健康危害越来越大而逐渐被重视。通过对中医诊治前列腺癌的证候分型和辨证方药规律总结研究发现,前列腺癌的发生发展与正邪变化密切相关,扶正法在临床上被广泛应用[23];文献报道也显示中医扶正抑瘤法在临床治疗晚期前列腺癌取得不错的临床获益[24],但目前对于前列腺癌发生机制尚不明确,主要与雄激素受体(AR)的基因扩增、突变、配体非依赖性激活等有关[20];越来越多的关于前列腺肿瘤病因学及发病机制研究表明,基因异常在前列腺癌的发生、发展过程中起着重要的作用,常见的相关基因包括遗传易感性基因、肿瘤抑制基因、转移基因、转移抑制基因等[25];主要的研究通路集中于 PI3K-AKT-m TOR/FOXO/NF- κ B 等信号通路[26]。黄芪作为常用的扶正中药,广泛地应用于前列腺癌中医药治疗的临床实践中,黄芪多糖、黄芪注射液在联合化疗治疗前列腺癌也得到了广泛使用。目前大量研究显示黄芪及其制剂对于抑制前列腺癌细胞调节患者机体免疫功能、降低化疗毒副作用、改善患者预后有着显著作用。

本研究基于网络药理学技术筛选得到的 16 种成分中除常春藤皂苷元属于皂苷类,其余均为黄酮类,分子对接技术得到最核心的 4 个成分为槲皮素、山柰酚、异黄酮和芒柄花素。于玲[27]认为黄芪中的黄酮类成分有明显的抗癌作用,郑雪花[28]通过实验研究发现黄酮类化合物对去势抵抗性前列腺癌靶标 AKR1C3 的活性具有较强的抑制作用;邢红宇[29]等相关细胞实验发现了槲皮素可有效减弱肿瘤细胞启动子甲基化程度,抑制 LNCap 细胞的生长增殖、通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路诱导 PC-3 细胞发生自噬[30];王康静[31]等通过槲皮素对人前列腺癌 PC3 裸鼠移植瘤的实验性疗效研究也证实了槲皮素对肿瘤细胞的抑制作用;通过机制层面研究证明了槲皮素对于前列腺癌的治疗应用依据。仇炜[32]等通过应用损伤愈合实验检测山柰酚对 PC-3 细胞迁移的作用,结果显示山柰酚抑制 PC-3 细胞迁移。谭蓓蓓[33]等通过 18F-氟化钠 PET CT 法研究山柰酚对前列腺癌骨转移模型小鼠的作用及其机制实验,结果显示山柰酚可通过调节丝裂原活化蛋白激酶和胞外信号调节激酶以及肿瘤坏死因子- α 的表达,发挥抗前列腺癌肿瘤生长的作用。通过机制层面研究证明了山柰酚对于前列腺癌的治疗应用依据。研究显示芒柄花素作为抗肿瘤药物可用于治疗多种类型的肿瘤包括前列腺癌[34] [35],其发挥抗肿瘤作用的机制主要包括通过多种分子途径抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡、抑制细胞迁移和侵袭及诱导细胞周期停滞等。结合相关基础实验和临床疗效观察,也为黄芪成分的进一步筛选和深入分析研究提供了重要参考。

分析结果显示,CCND1、MYC、MAPK1、AKT1、ESR1、TNF、RELA、TP53、RB1、IL6、JUN、FOS、MAPK14 这 13 个核心靶点在网络图中起主要作用。CCND1 (Cyclin D1)作用在于作为细胞周期蛋白依赖性激酶 CDKs 的调控者。不同的周期蛋白表现出各自独特的表达及降解特性,这有助于每个有丝分裂事件在时间上的协调性,PCa 组织中 Cyclin D1 表达增高,其异常表达与 PCa 的发生发展有关[36]。N-Myc 为 NEPC 驱动基因,可促进前列腺癌的神经内分泌转化,且高表达 N-Myc 的患者生存率普遍较低,靶向 N-Myc 相关信号通路可以为治疗前列腺癌提供新的方向和思路[37]。胡波[38]利用 microRNA-212 通过调控 MAPK1,抑制前列腺癌细胞增殖、侵袭,从而促进前列腺癌细胞凋亡,证明了 MAPK1 靶点对于前列腺癌治疗的研究意义。张丽娟[39]通过敲除 AKT1 基因,裸鼠皮下接种成瘤实验结果发现皮下成瘤能力明显减弱,证实了 AKT1 基因在去势抵抗性前列腺癌进展中的重要作用。赵谊宁[40]通过对前列腺癌标本癌组织和前列腺增生的免疫组化指标统计发现 ESR1 在良性前列腺增生组织中低表达,而在前列腺癌组织中呈现高表达,其表达有显著性差异,也提示 ESR1 作为前列腺癌治疗的对应靶点。袁佳璐[41]通过研究 RB1 基因表达对前列腺癌 LNCaP 细胞系生物学行为及药物敏感性的影响发现, RB1 基因表达状态可影响 LNCa P 细胞系功能, RB1 基因表达状态有可能成为前列腺癌内分泌药物疗效的预测因子。IL-6 在短期促进 PC3 细胞的增殖,并且诱导 miR-21 的高表达同时 miR-21 与前列腺癌的恶性程度及依赖

性相关,在前列腺癌的非依赖性进程中起重要作用,因此 IL-6 通过调节 miR-21 的增殖成为非依赖性前列腺癌的一个潜在治疗靶点[42]。JNK 激活后,可以通过下游底物调控细胞增殖、存活、分化和代谢,在多种癌症的发生发展中发挥重要作用[43]。早期研究[44] [45] [46]结果显示:多种癌基因,如 Ras、Bcr-Abl、Met 和 c-Fos 传递的癌基因信号依赖 JNK 的激活,表明 JNK 信号参与癌基因信号传导促进癌症进展。

KEGG 通路富集分析结果表明,黄芪治疗前列腺癌的关键靶点主要富集于 AGE-RAGE 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路(IL-17 signaling pathway)、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)、肿瘤坏死因子信号通路(TNF signaling pathway)等。Wu Xiaoming 等[47]发现 PI3K-Akt 信号通路能够调控多种蛋白质的合成,参与了前列腺癌细胞的增殖和凋亡、迁移与分化等多种调节。早期前列腺癌患者经过去势治疗,往往都会发展至去势抵抗性前列腺癌,研究发现长期的 ADT 治疗会促进 PI3K/Akt 通路的激活,从而增加了肿瘤细胞的抗凋亡能力[48]这些发现也为 PI3K/AKT 信号通路上出现新的治疗靶点提供了研究可能[49]。包继明等[50]研究发现,在前列腺癌细胞中,AGE 与其受体 RAGE 结合后,激活了 PI3K/Akt 信号通路,RB 蛋白磷酸化显著增强,磷酸化的 RB 总量明显升高,磷酸化的 RB 可能释放出与之结合的转录因子 E2F, E2F 启动转录,细胞周期从 G1 进展至 S 期,从而促进了前列腺癌细胞增殖。目前多个研究层面已证实,脂代谢重编程在肿瘤领域受到广泛重视,并被认为是 CRPC 细胞的增殖、凋亡、迁移侵袭和维持膜稳态等多种生物学过程中发挥重要作用,还参与调控机体肿瘤免疫、耐药和内环境稳态等多种过程[51]。PCa 发生发展过程中存在多种途径的脂代谢异常,包括循环池中脂质的摄取增加[52],脂肪酸从基质脂肪细胞更多地转移到 PCa 细胞内[53];有数据统计显示 PCa 患者在接受 ADT 治疗 12~24 周后,可观察到患者胰岛素抵抗增强和血清胆固醇升高的现象[54]。通过对临床病例统计分析发现,与良性前列腺增生组织相比,前列腺癌患者中 IL-17 水平明显升高[55],IL-17 可能通过促进肿瘤血管形成参与前列腺癌的发生、发展[56]。陈海蛟等[57]实验发现 MAPK 信号通路可促进 PC-3 细胞的黏附、迁移和侵袭能力。

本研究结果显示,中药黄芪主要以 16 种成分作用于 172 个疾病相关靶点,核心成分为槲皮素、山柰酚、异黄酮、芒柄花素,涉及多种生物过程、分子机制和通路调控,体现了黄芪多成分、多靶点、多途径的作用特点,重要靶点与核心通路之间达到了密切而统一的联系。通过查阅国内外相关文献对核心通路的分析与验证,对黄芪治疗前列腺癌的具体机制和核心通路有了初步掌握,但分子对接结果与真实环境可能存在一定的差异,后期还需要对相关靶点开展针对性动物实验研究进行验证。

参考文献

- [1] Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2016) Cancer Statistics, 2016. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **66**, 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21332>
- [2] Zhang, S., Zhao, S. and Fu, X. (2019) Intensity Modulated Radiotherapy in Combination with Endocrinotherapy in the Treatment of Middle and Advanced Prostatic Cancer. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, **35**, 1264-1269. <https://doi.org/10.12669/pjms.35.5.591>
- [3] Bonkhoff, H. (2018) Estrogen Receptor Signaling in Prostate Cancer: Implications for Carcinogenesis and Tumor Progression. *Prostate*, **78**, 2-10. <https://doi.org/10.1002/pros.23446>
- [4] Dai, C., Heemers, H. and Sharifi, N. (2017) Androgen Signaling in Prostate Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **7**, a030452. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030452>
- [5] 李宁, 肖国有. 前列腺癌骨转移治疗的研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(8): 641-646.
- [6] 宋竖旗, 李灿, 刘昭文, 等. 中西医结合治疗去势抵抗性前列腺癌[J]. 中医学报, 2020, 35(11): 2285-2289.
- [7] 刘德果, 陈其华, 李博. 益肾通癥汤联合中医外治对中老年前列腺癌骨转移临床疗效研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(4): 83-87.

- [8] 顾坚毅, 谈鸣岳, 葛旻垚, 等. 加味参芪地黄汤对去势后激素敏感性前列腺癌骨转移患者的疗效研究[J]. 中华男科学杂志, 2021, 27(2): 161-166.
- [9] 陈浩然, 刘浩. 中医药防治去势抵抗性前列腺癌的思路与方法[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(3): 164-168.
- [10] 车琳琳, 李想, 董婉茹, 等. 中医药对前列腺癌信号通路的调控作用[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(11): 98-104.
- [11] 陈炽炜, 林曼迪, 刘昊, 等. 去势抵抗性前列腺癌患者的中医证型分布及其早期进展原因的多因素分析[J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(7): 1241-1247.
- [12] 王泽帆. 前列腺癌患者的中医体质类型分析[D]: [硕士学位论文]. 广州: 广州中医药大学, 2019.
- [13] 张瑶, 李小江, 贾英杰. 中医“健脾利湿化痰法”在前列腺癌治疗中的运用[J]. 天津中医药, 2021, 38(3): 317-321.
- [14] 毛倩倩, 林久茂. 黄芪多糖抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中医药通报, 2020, 19(4): 69-72.
- [15] 秦书敏, 林静瑜, 黄可儿. 黄芪的免疫调节作用研究概述[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(3): 699-702.
- [16] 李小江, 冯梦晗, 牟睿宇, 等. “健脾利湿化痰法”治疗中晚期前列腺癌内分泌治疗后部分雄激素缺乏综合征的临床观察[J]. 中草药, 2020, 51(21): 5559-5565.
- [17] 张瑶, 许月梅, 李家合, 等. 基于 PI3K/AKT/eNOS 信号通路探讨健脾利湿化痰方抑制前列腺癌血管生成的实验研究[J]. 天津中医药, 2021, 38(4): 522-527.
- [18] 吴坚, 薛晓燕, 王丽芳, 等. 分子对接方法应用与发展[J]. 亚太传统医药, 2013, 9(12): 80-81.
- [19] 马璐, 田国祥, 耿辉, 等. 中药系统药理数据库 TCMSP 及其分析应用简介[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(12): 1413-1416.
- [20] Ma, C., Wang, L. and Xie, X. (2011) GPU Accelerated Chemical Similarity Calculation for Compound Library Comparison. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **51**, 1521-1527. <https://doi.org/10.1021/ci1004948>
- [21] Xu, X., Zhang, W., Huang, C., et al. (2012) A Novel Chemometric Method for the Prediction of Human Oral Bioavailability. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 6964-6982. <https://doi.org/10.3390/ijms13066964>
- [22] Siegel, R.L., Miller, K.D. and Jemal, A. (2020) Cancer Statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **70**, 7-30. <https://doi.org/10.3322/caac.21590>
- [23] 司富春, 杜超飞. 前列腺癌的中医证候和方药规律分析[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 581-585.
- [24] 陈刚. 中医扶正抑瘤法治晚期前列腺癌疗效分析[J]. 中医临床研究, 2017, 9(12): 131-132.
- [25] 朱秀, 邓松华. 前列腺癌发病与基因关联的研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(11): 1648-1651.
- [26] 白璐, 张森, 卢亚乐, 等. 前列腺癌发病机制中信号通路的研究进展[J]. 中国医学工程, 2020, 28(9): 39-43.
- [27] 于玲, 王知斌, 王秋红, 等. 黄芪中黄酮类化合物药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2018, 35(2): 104-108.
- [28] 郑雪花, 姜赞, 王小雨, 等. 黄酮类化合物对 AKR1C3 抑制作用的研究[J]. 今日药学, 2018, 28(8): 505-509.
- [29] 邢红宇, 朱明月, 李伟, 等. 槲皮素调控 GSTP1 甲基化抑制前列腺癌 LNCap 细胞增殖的机制研究[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(12): 1921-1925.
- [30] 宋静, 白吉祥, 王书惠, 等. 槲皮素对人前列腺癌 PC-3 细胞自噬及磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路的影响[J]. 中国医学科学院学报, 2020, 42(5): 578-584.
- [31] 王康静. 槲皮素对人前列腺癌 PC-3 裸鼠移植瘤的实验性疗效[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京中医药大学, 2014.
- [32] 仇炜, 雷宇华, 张宁, 等. 山柰酚抑制人前列腺癌 PC-3 细胞迁移及其作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(20): 3972-3975.
- [33] 谭蓓蓓, 郭婧澜, 刘倩, 等. 山柰酚对前列腺癌骨转移模型小鼠的作用及其机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(3): 293-296.
- [34] Liu, X.J., Li, Y.Q., Chen, Q.Y., et al. (2014) Up-Regulating of RASD1 and Apoptosis of DU-145 Human Prostate Cancer Cells Induced by Formononetin *in Vitro*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **15**, 2835-2839. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.6.2835>
- [35] Li, T., Zhao, X., Mo, Z., et al. (2014) Formononetin Promotes Cell Cycle Arrest via Downregulation of Akt/Cyclin D1/CDK4 in Human Prostate Cancer Cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **34**, 1351-1358. <https://doi.org/10.1159/000366342>
- [36] 邱忠凯, 谭淼, 梁伟, 等. 前列腺癌组织中 miR-34b、Cyclin D1 mRNA 表达变化及其意义[J]. 山东医药, 2019, 59(15): 78-80.

- [37] 吴大森, 白金玲, 张俊, 等. N-Myc 促进前列腺癌神经内分泌转化的研究进展[J]. 中外医疗, 2020, 39(26): 196-198.
- [38] 胡波. MicroRNA-212 通过 MAPK1 途径抑制前列腺癌细胞增殖和侵袭的机制研究[D]: [博士学位论文]. 济南: 山东大学, 2018.
- [39] 张丽娟. AKT1/2 在去势抵抗性前列腺癌进展中的作用研究[D]: [博士学位论文]. 新乡: 新乡医学院, 2019.
- [40] 赵谊宁. 雌激素受体 ESR1 在前列腺癌组织中表达及分布的研究[D]: [硕士学位论文]. 南京: 东南大学, 2016.
- [41] 袁佳璐. RB1 基因表达对前列腺癌 LNCaP 细胞系生物学行为及药物敏感性的影响[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连医科大学, 2020.
- [42] 李金贵, 马利, 熊兵红, 等. IL-6 调节 miR-21 在激素抵抗性前列腺癌中的机制研究[J]. 西部医学, 2013, 25(10): 1458-1463.
- [43] Seki, E., Brenner, D.A. and Karin, M. (2012) A Liver Full of JNK: Signaling in Regulation of Cell Function and Disease Pathogenesis, and Clinical Approaches. *Gastroenterology*, **143**, 307-320. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.004>
- [44] Rodrigues, G.A., Park, M. and Schlessinger, J. (1997) Activation of the JNK Pathway Is Essential for Transformation by the Met Oncogene. *EMBO Journal*, **16**, 2634-2645. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.10.2634>
- [45] Behrens, A., Jochum, W., Sibilica, M., et al. (2000) Oncogenic Transformation by Ras and Fos Is Mediated by c-Jun N-Terminal Phosphorylation. *Oncogene*, **19**, 2657-2663. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1203603>
- [46] Bubici, C. and Papa, S. (2014) JNK Signalling in Cancer: In Need of New, Smarter Therapeutic Targets. *British Journal of Pharmacology*, **171**, 24-37. <https://doi.org/10.1111/bph.12432>
- [47] Wu, X., He, Y., Zhang, G., et al. (2018) Royleanone Diterpenoid Exhibits Potent Anticancer Effects in LNCaP Human Prostate Carcinoma Cells by Inducing Mitochondrial Mediated Apoptosis, Cell Cycle Arrest, Suppression of Cell Migration and Downregulation of mTOR/PI3K/AKT Signalling Pathway. *Journal of B.U.O.N.: Official Journal of the Balkan Union of Oncology*, **23**, 1055-1060.
- [48] Pfeil, K., Eder, I.E., Putz, T., et al. (2004) Long-Term Androgen-Ablation Causes Increased Resistance to PI3K/Akt Pathway Inhibition in Prostate Cancer Cells. *Prostate*, **58**, 259-268. <https://doi.org/10.1002/pros.10332>
- [49] 张瑶, 李家合. PI3K/AKT 信号通路与前列腺癌关系的研究进展[J]. 肿瘤学杂志, 2021, 27(2): 153-157.
- [50] 包继明. AGE-RAGE 激活 PI3K/Akt 通路调控视网膜母细胞瘤蛋白促进前列腺癌细胞增殖的机制研究[D]: [硕士学位论文]. 广州: 南方医科大学, 2014.
- [51] 高杰, 丁留成, 卫中庆. 脂质代谢在去势抵抗性前列腺癌中的研究进展[J]. 东南国防医药, 2021, 23(2): 169-174.
- [52] Kuemmerle, N.B., Rysman, E., Lombardo, P.S., et al. (2011) Lipoprotein Lipase Links Dietary Fat to Solid Tumor Cell Proliferation. *Molecular Cancer Therapeutics*, **10**, 427-436. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-10-0802>
- [53] Gazi, E., Gardner, P.L., Ockyer, N.P., et al. (2007) Direct Evidence of Lipid Translocation between Adipocytes and Prostate Cancer Cells with Imaging FTIR Microspectroscopy. *Journal of Lipid Research*, **48**, 1846-1856. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700131-JLR200>
- [54] Ostergren, P.B., Kistorp, C., Fode, M., et al. (2019) Metabolic Consequences of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists vs Orchiectomy: A Randomized Clinical Study. *BJU International*, **123**, 602-611. <https://doi.org/10.1111/bju.14609>
- [55] 刘杰, 刘艳波, 杨丽娟, 等. 细胞因子 IL-17E、IL-17F 及其受体在前列腺癌组织中的表达及意义[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2020, 21(3): 338-342.
- [56] 徐锐, 王莉, 李满祥. 白细胞介素-17 在前列腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 宁夏医科大学学报, 2017, 39(7): 756-759.
- [57] 陈海蛟, 王浩, 张立, 等. MAPK 信号通路在表皮生长因子调控人前列腺癌 PC-3 细胞黏附、迁移、侵袭的作用[J]. 复旦学报(医学版), 2006(2): 175-178.