

引用:周蓉娴,邓斌,张清池,罗健,严承.基于瓦尔德聚类及网络药理学探讨中药治疗雄激素性脱发的作用机制[J].中医药导报,2025,31(3):114-121.

基于瓦尔德聚类及网络药理学探讨 中药治疗雄激素性脱发的作用机制^{*}

周蓉娴¹,邓斌¹,张清池¹,罗健²,严承¹

(1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;2.湖南省中医药研究院,湖南 长沙 410000)

[摘要] 目的:探讨中药治疗雄激素性脱发(AGA)的作用机制。方法:通过中国知网(CNKI)、万方数据库、维普数据库、中国生物医学文献数据库(CBM)、PubMed、Web of Science等数据库检索临床治疗AGA的期刊文献,从文献中收集治疗AGA的方剂。统计高频药物用药频数、药味、药性、归经和功效等,进行关联规则和瓦尔德聚类分析。对高频药物进行各项分析后,得到治疗AGA的7味核心药物组。基于网络药理学分析核心药物组的活性成分、靶蛋白及相关通路,分子对接验证核心靶点与核心药物活性成分的结合能力。结果:筛选得到501份符合标准的处方,涉及512味中药,其中高频中药以补益药和活血药为主,药性以辛、苦为主。瓦尔德聚类分析将高频药物分为四类,其中聚一类第3组药物(川芎-生地黄-制何首乌-侧柏叶-茯苓-当归-白鲜皮)在多种不同分析方法中出现频数较高,作为核心药物组。检测出59种核心药物组的活性成分,1128个潜在作用靶点,以及944个AGA靶点。PPI网络分析结果显示,核心靶蛋白包括AKR1C3、EP300、HPCDS等。分子对接确认了核心靶蛋白与核心活性成分结合能力较好。结论:中药治疗雄激素性脱发的核心药物组合为川芎、生地黄、制何首乌、侧柏叶、茯苓、当归、白鲜皮,具有补益肝肾、活血化瘀的功效。核心药物组可通过多个靶蛋白参与信号通路调节,降低雄激素影响,改善头皮微循环,刺激毛发生长。

[关键词] 雄激素性脱发;中药;网络药理学;瓦尔德聚类;分子对接

[中图分类号] R275.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)03-0114-08

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.03.019

Exploring the Mechanism of Traditional Chinese Medicine in Treating Androgenetic Alopecia Based on Ward's Clustering and Network Pharmacology

ZHOU Rongxian¹, DENG Bin¹, ZHANG Qingchi¹, LUO Jian², YAN Cheng¹

(1.Hunan University of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410208, China;

2.Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410000, China)

[Abstract] Objective: To explore the mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) in treating androgenetic alopecia (AGA). Methods: Clinical journal articles on the treatment of AGA were retrieved from databases including CNKI, Wanfang, VIP, China Biology Medicine (CBM), PubMed, and Web of Science. Prescriptions for AGA treatment were collected from the literature. High-frequency herbs were analyzed for their frequency, properties, flavors, meridian tropism, and efficacy. Association rules and Ward's clustering analysis were performed. After comprehensive analysis, a core group of seven herbs for AGA treatment was identified. Network pharmacology was used to analyze the active components, target proteins, and related pathways of the core herb group. Molecular docking was employed to verify the binding ability between core targets and active components. Results: A total of 501 prescriptions meeting the criteria were screened, involving 512 Chinese herbs. High-frequency herbs were primarily tonifying and blood-activating, with pungent and bitter properties dominating. Ward's clustering analysis categorized high-frequency herbs into four groups, with the third group [Chuanxiong (Chuanxiong Rhizoma), Shengdihuang (Rehmanniae Radix), Zhiheshouwu (Polygoni

*基金项目:湖南省教育厅优秀青年基金项目(22B0372);湖南省社科基金项目(22ZDA003,23WTA10)

通信作者:严承,男,副教授,研究方向为中医药及生物信息学

Multiflori Radix Praeparata), Cebaiye (Platycladi Cacumen), Fuling (Poria), Danggui (Angelicae Sinensis Radix), and Baixianpi (Dictamni Cortex)] appearing most frequently across different analytical methods and thus identified as the core herb group. Fifty-nine active components, 1 128 potential targets, and 944 AGA-related targets were identified. Protein–protein interaction (PPI) network analysis revealed core target proteins, including AKR1C3, EP300, and HPGDS. Molecular docking confirmed strong binding affinity between core target proteins and active components. Conclusion: The core herb combination for treating AGA includes Chuanxiong (Chuanxiong Rhizoma), Shengdihuang (Rehmanniae Radix), Zhiheshouwu (Polygoni Multiflori Radix Praeparata), Cebaiye (Platycladi Cacumen), Fuling (Poria), Danggui (Angelicae Sinensis Radix), and Baixianpi (Dictamni Cortex), which tonify the liver and kidneys, activate blood circulation, and resolve stasis. The core herb group regulates multiple signaling pathways through various target proteins, reduces androgen effects, improves scalp microcirculation, and stimulates hair growth.

[Keywords] androgenetic alopecia; traditional Chinese medicine; network pharmacology; Ward's clustering; molecular docking

雄激素性脱发(androgenetic alopecia, AGA)是一种常见的脱发类型,又称雄激素性秃发、脂溢性脱发、早秃等。AGA起始于青春期或青春后期,发病率随年龄增长而升高^[1-2]。在我国,男性患病率约为21.3%,女性约为6.0%^[3]。虽然AGA不直接危及健康,但对患者心理健康和生活质量影响严重^[4]。及时治疗不仅能延缓脱发进展,还能改善患者心理健康。

全基因组测序发现了一些AGA的易感基因,但具体发病基因尚未明确。研究表明,雄激素在AGA发病中起关键作用^[4-5]。此外,毛囊周围的炎症、生活压力、不良习惯等因素也可能加重AGA症状。即使雄激素水平在正常范围内,但脱发区毛囊内雄激素受体基因表达增加或Ⅱ型5α还原酶基因表达升高,使雄激素对毛囊的作用加强^[6-7]。易感毛囊内的Ⅱ型5α还原酶可将睾酮转化为二氢睾酮,结合雄激素受体引发反应,导致毛囊微小化并最终脱发^[8-9]。

中医学认为AGA属于“发堕”“发落”等范畴,其病程长,多为虚实夹杂。虚者主要由于肝或气血不足,实者多为风湿热瘀。中医学认为“发为血之余”,“发为肾之候”。肾藏精,精血相互滋生促进毛发生长。《诸病源候论》记载:“若血盛则荣于须发,故须发美;若血气衰弱,经脉虚竭,不能荣润,故须发秃落。”《灵枢·阴阳二十五人》云“足阳明之上,血气盛则髯生长”,说明气血对头发生长具有重要作用^[10]。《素问·五脏生成篇》曰:“多食甘,则骨痛而发落。”饮食不节,嗜食肥甘厚味,易致脾气受损,湿热上蒸侵蚀发根,致头发油、脱落^[11]。《医林改错》曰:“伤寒、温病后头发脱落,各医书皆言伤血,不知皮里肉外,血瘀阻塞血路,新血不能养发,故发脱落。”血瘀所致瘀阻毛窍也是脱发一大病因。

临幊上,AGA治疗方法包括系统用药、局部用药(如非那雄胺、米诺地尔)、毛发移植、中胚层疗法(如自体富血小板血浆,PRP)和低能量激光治疗(LLLT)^[12-14]等。中医药则采用口服中药汤剂、穴位贴敷、针灸推拿、拔罐^[15-16]等方法治疗AGA,但中医药治疗AGA的作用机制尚不明确,故本研究通过瓦尔德聚类及网络药理学^[17-18]探讨中药治疗AGA的作用机制,旨在为临幊提供参考和理论依据。

1 资料与方法

1.1 数据来源 检索中国知网(CNKI)、万方数据库、维普数据库、中国生物医学文献数据库(CBM)、PubMed、Web of Science等数据库,检索建库至今文献,建立AGA方剂数据库。检索式以CNKI为例:SU%=(“中医”+“中药”+“中医药”)AND SU%=(“脱发”+“秃发”+“斑秃”+“早秃”+“雄激素性秃发”+“脂溢性脱发”+“脂溢性秃发”+“雄性秃”+“AGA”+“androgenetic alopecia”)AND SU%=(“临床”+“治疗”+“辨治”+“论治”+“验案”+“医案”+“经验”+“疗效”+“观察”+“报道”)。

1.2 文献纳入标准 (1)中药或中成药治疗AGA,方案符合《中国人雄激素性脱发诊疗指南》^[19]; (2)药物组成及疗效确切,无其他联合治疗的临床研究、名医经验、病案等; (3)不限剂量、剂量和疗程; (4)公开发表的期刊文献; (5)同一作者多篇类似文章,以信息完整者计1次; (6)不同文献用药相同者,仅保留一篇。

1.3 文献排除标准 (1)文献主题或疾病概念与AGA疾病混淆; (2)理论探讨、综述、动物实验等文献; (3)使用中药外治法、联合化学药或其他治疗的文献; (4)药物组成不完整; (5)食疗方。

1.4 数据规范化与疾病数据库的建立 筛选出符合标准的中药处方,录入Excel 2016,建立中药复方治疗AGA的数据库。根据2020年版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)和“十三五”规划教材《中医学》中中药名称、分类、性味归经及功效进行统一,如“川穹”统一为“川芎”,“杭菊”统一为“菊花”,“白芥子”统一为“芥子”,“熟地”统一为“熟地黄”,“怀山药”“淮山药”统一为“山药”,“旱莲草”统一为“墨旱莲”,“黑桑葚”“桑椹”统一为“桑葚”等。

1.5 中药分析 采用Excel 2016对纳入中药处方所含单味中药的药物功效、四气、五味、归经进行用药频数统计分析; 采用IBM SPSS Modeler 18.0软件对高频中药进行关联规则分析^[20],挖掘单味中药间的潜在关联; 使用IBM SPSS Statistics 27.0软件对高频中药进行瓦尔德聚类分析。瓦尔德聚类分析核心思想是通过最小化聚类内的方差来构建聚类。相比于其他聚类方法(如单链接法、完全链接法等),瓦尔德系统聚类倾

向于生成形状更为紧凑和均匀的聚类。使用Origin 2022软件对高频中药进行四气、五味、归经分析并绘制雷达图。

1.6 网络药理学

1.6.1 核心药物活性成分及靶点筛选 根据数据挖掘结果,选择最高频药对组合(核心药物组)作为研究对象,进行网络药理学分析。核心药物组的活性成分筛选及靶点预测通过TCMSP、HERB、ETCM及BATMAN-TCM数据库收集,筛选标准为口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 及类药性(DL) ≥ 0.18 ,并在Uniprot数据库规范靶点名。对于“制何首乌”和“生地黄”,在SymMap数据库检索其成分并获取2D结构及SDF文件。利用Swiss ADME软件,以OB $\geq 30\%$ 、胃肠吸收评为High、Drug-likeness五项评分中任意两项为Yes(Lipinski、Ghose、Veber、Egan及Muegge)为条件筛选化合物。在Swiss Target Prediction软件中,以制何首乌、生地黄成分的SMILES为关键词检索,获得潜在靶点基因名称,并使用UniProt数据库校正基因名,确保数据准确性。

1.6.2 疾病靶点筛选及“核心药物-有效成分-靶标-AGA疾病”网络图构建 以“AGA”“Androgenetic Alopecia”为检索词,通过DrugBank、DisGeNET、PharmGKB、GeneCards及OMIM数据库筛选相关疾病靶点。其中在GeneCards数据库中,设置相关度评分(score) ≥ 1 分,确保结果可靠性和相关性。收集的靶点进行去重处理后,利用UniProt数据库规范基因名称。将药物、活性成分及其靶点与AGA相关的疾病靶点信息整合,上传至Cytoscape 3.10.2软件中,构建“核心药物-有效成分-靶标-AGA疾病”网络图。网络图通过节点和边展示药物与疾病靶点的相互作用关系,不同颜色和形状区分节点和边,以直观展示网络中的层次结构和关系强度。

1.6.3 核心药物作用靶点蛋白质互作^[20](protein-proteininteraction, PPI)网络构建 将核心药物靶点与AGA疾病靶点的交集导入String数据库,设置物种为“Homo sapiens”,条件为隐藏未连接的节点和最低相互作用分为0.7。将结果导出并导入Cytoscape 3.10.2软件,然后利用Network Analyzer工具对交集靶点的网络拓扑性质参数进行分析,包括度中心性、介数中心性及接近中心性等。构建PPI(蛋白质-蛋白质相互作用)网络图。

1.6.4 基因本体论(GO)及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 利用Metascape数据库(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)对潜在疾病靶点进行GO和KEGG通路富集分析^[22-23],并通过微生信网站(<http://www.bioinformatics.com.cn>)进行可视化展示。通过KEGG富集分析结果,分析关键通路、核心靶点蛋白及核心成分之间的关系,利用Cytoscape3.10.2软件,构建“成分-靶点-通路-疾病”可视化网络。

1.6.5 分子对接 选择PPI网络中介数中心性排名前10位的核心靶蛋白与度中心性排名前5位的核心活性成分进行分子对接验证^[24]。从PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中获得活性成分SDF文件,导入open babel 2.4.1软件进行文件转换,并导出为mol2格式;通过Uniprot数据获取核心靶蛋白Entry ID,输入RSCB数据库(<https://www.rcsb.org/>)获取其3D晶体结构,导出PDB格式。利用CB-Dock2在线平台(<http://clab.labshare.co.uk/cb-dock/php/index.php>)进行验证和可视

化分析。应用CB-Dock2^[25-26]预测蛋白质的结合区域,使用基于曲率的空穴检测方法计算中心和大小,并根据Vina分数对结合模式进行排序,提供结合模式的交互式三维可视化^[27]。结合能的绝对值从高到低排列。

2 结 果

2.1 文献、处方筛选结果 获得文献2 756篇,涉及处方670份,对获取的初始处方数据进行筛选,删除重复处方,最终纳入501份处方。(见图1)

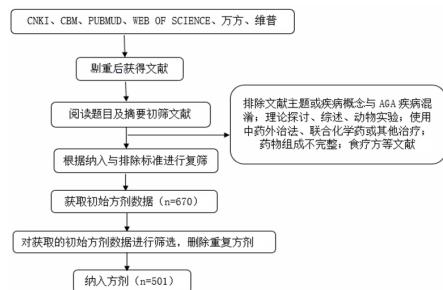


图1 文献、处方筛选流程

2.2 中药频数统计 501份处方涉及512味中药,总频数为4 558。用药频数 ≥ 30 的高频中药共有33种,总频数为2 514,占用药总频数的55.16%。其中,当归、制何首乌、川芎、熟地黄、女贞子、侧柏叶、生地黄、墨旱莲的使用频数较高,表明这些中药在处方中具有重要地位且应用广泛。(见表1)

表1 中药频数分布(频数 ≥ 30)

序号	药物	频数	序号	药物	频数
1	当归	215	18	白术	55
2	制何首乌	200	19	补骨脂	53
3	川芎	148	20	白鲜皮	51
4	熟地黄	125	21	泽泻	48
5	女贞子	114	22	桑葚	46
6	侧柏叶	111	23	防风	45
7	生地黄	109	24	黑芝麻	43
8	墨旱莲	102	25	天麻	43
9	白芍	91	26	柴胡	42
10	丹参	91	27	山茱萸	41
11	茯苓	89	28	木瓜	38
12	甘草	86	29	羌活	38
13	黄芪	77	30	党参	36
14	菟丝子	76	31	陈皮	33
15	红花	73	32	桃仁	33
16	枸杞子	70	33	黄柏	30
17	赤芍	62			

2.3 高频中药四气、五味、归经统计 依据2020年版《中国药典》和《中药学》分类标准,对纳入的高频中药(用药频数 ≥ 30)进行性味的统计分析。每味中药的不同性味分别统计入内。药味涉及辛(723, 17.43%), 甘(1612, 38.88%), 苦(1004, 24.21%), 酸(318, 7.67%), 涩(352, 8.49%), 淡(137, 3.30%)及咸(0, 0.00%)。药性涉及温(653, 25.97%), 微温(488, 19.41%), 平(476, 18.93%), 寒(497, 19.76%), 凉(114, 4.53%)及微寒(286, 11.37%)。将同一味中药的不同归经分别统计入内。统计结果显示,高频中药归经涉及肝经(1 918, 29.32%)、心(1 090, 16.66%)、脾

经(1 056, 16.14%)、肺经(474, 7.24%)、肾经(1 184, 18.10%)、大肠经(76, 1.16%)、小肠经(0, 0.00%)、心包经(148, 2.26%)、三焦经(0, 0.00%)、胃经(192, 2.93%)、膀胱经(212, 3.24%)和胆经(190, 2.90%)。(见图2)

2.4 高频中药功效统计 高频中药涵盖了10种功效分类,涉及补益药、活血药、止血药、清热药、利水渗湿药、解表药、平肝息风药、固涩药、祛风湿药和理气药。(见表2)

表2 高频中药功效分析

功效类型	频数	频率/%	功效类型	频数	频率/%
补益药	1 389	55.25	解表药	125	4.97
活血药	345	13.72	平肝息风药	43	1.71
止血药	111	4.41	固涩药	41	1.63
清热药	252	10.02	祛风湿药	38	1.51
利水渗湿药	137	5.44	理气药	33	1.31

注:频率=频数/2 514×100%。

2.5 高频中药关联规则分析 使用IBM SPSS Modeler 27软件对高频中药进行关联规则分析,将“弱链接上限”设定为15,“强链接下限”设定为45,获得频数≥60的药物组合14种。(见表3)高频中药关联网络图见图3。

表3 常用药物组合(频数≥60)

序号	药物组合	频数	序号	药物组合	频数
1	当归-制何首乌	119	8	白芍-当归	68
2	川芎-当归	105	9	当归-女贞子	66
3	当归-熟地黄	86	10	当归-生地黄	65
4	熟地黄-制何首乌	85	11	川芎-熟地黄	64
5	女贞子-制何首乌	74	12	当归-菟丝子	63
6	墨旱莲-女贞子	72	13	墨旱莲-制何首乌	62
7	侧柏叶-当归	71	14	白芍-熟地黄	60

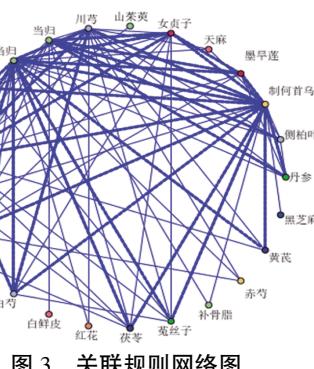


图3 关联规则网络图

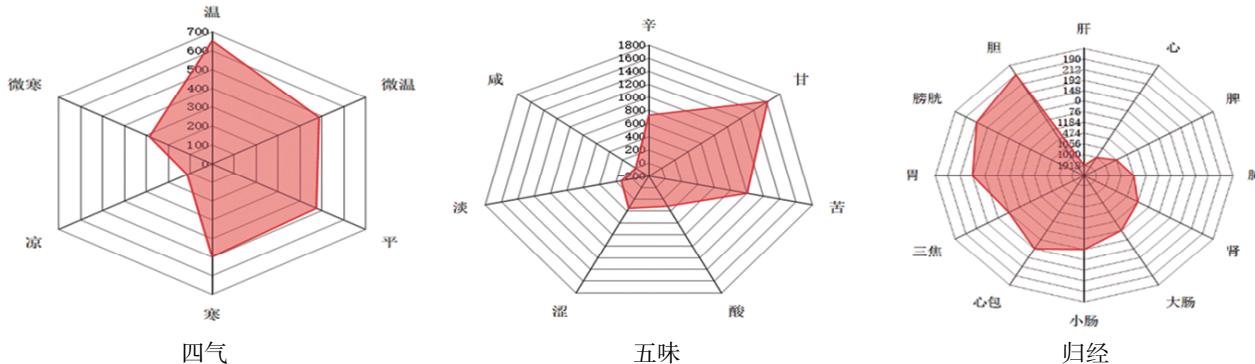


图2 四气、五味、归经分布雷达图

使用IBM SPSS Modeler 27软件,设置支持度为7%,置信度为80%,提升度≥1,最大前项数为5,利用Apriori算法进行建模,进一步挖掘高频中药之间的配伍关系,获得11对核心药物组合。(见表4)

表4 核心药物组合

序号	后项	前项	实例	支持度/%	置信度/%	增益
1	制何首乌	枸杞子、当归	51	10.18	84.31	2.11
2	当归	菟丝子	76	15.17	82.89	1.95
3	制何首乌	枸杞子	70	13.97	82.85	2.07
4	当归	白芍、川芎	51	10.18	80.39	1.89
5	制何首乌	枸杞子、菟丝子	42	8.38	88.09	2.20
6	当归	枸杞子、菟丝子	42	8.38	88.09	2.07
7	当归	菟丝子、川芎	43	8.58	86.04	2.02
8	制何首乌	枸杞子	70	13.97	82.85	2.07
9	当归	白芍、熟地黄、川芎	40	7.98	82.50	1.94
10	制何首乌	黑芝麻	43	8.58	81.39	2.03
11	熟地黄	白芍、川芎、当归	41	8.18	80.48	3.22

2.6 高频中药瓦尔德聚类分析 利用IBM SPSS Statistics23.0软件对33味高频中药进行瓦尔德聚类分析,距离≥13以上的高频药物可分为四大类。聚一类:1组(黄芪、红花、枸杞子、黑芝麻),2组(白芍、丹参、熟地黄、女贞子、菟丝子、墨旱莲、桑葚),3组(川芎、生地黄、制何首乌、侧柏叶、茯苓、当归、白鲜皮);聚二类:防风、柴胡、山茱萸;聚三类:白术、桃仁、补骨脂、赤芍、泽泻、羌活、陈皮;聚四类:天麻、党参、木瓜、黄柏。(见图4)

以第一大类为重点选药,综合以上药物频数、性味、功效、关联规则和聚类分析结果,筛选得到川芎、生地黄、制何首乌、侧柏叶、茯苓、当归、白鲜皮为治疗AGA的核心药物组。

2.7 核心药物组活性成分及作用靶点 对7味核心药物组(川芎、生地黄、制何首乌、侧柏叶、茯苓、当归、白鲜皮)进行网络药理学分析,首先通过在TCMSP、HERB、ETCM及BATMAN-TCM等数据库收集核心药物组的活性成分。共得到59个活性成分。通过TCMSP、Swiss Target Prediction、Swiss ADME和SymMap等数据库获取上述活性成分的靶点信息,合并、去重后共得到1 128个可能的活性靶点。

2.8 疾病靶点筛选及“核心药物-有效成分-靶标-AGA疾病”网络图构建 通过在DrugBank、DisGeNET、PharmGKB、GeneCards、OMIM等数据库检索去重后,共获得AGA疾病靶点

944个。运用Cytoscape 3.10.2软件构建“核心药物-有效成分-靶标-AGA疾病”网络。(见图5)网络共包含1 390个节点和1 804条边。

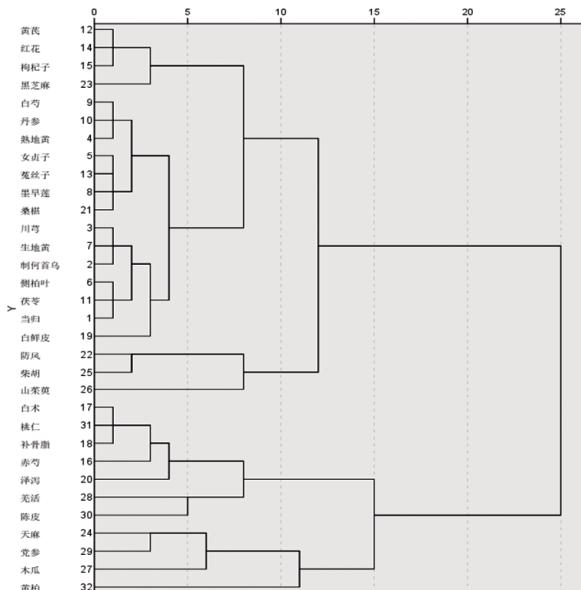
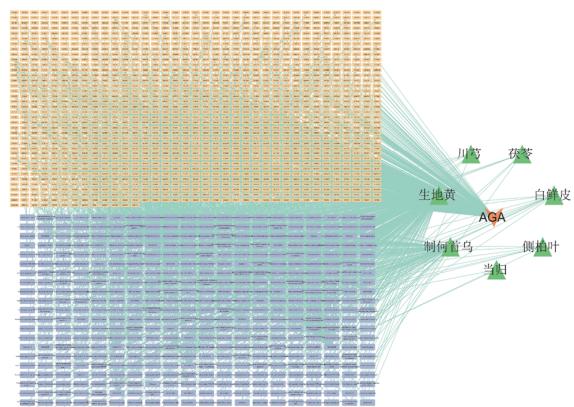


图4 中药聚类分析 (频数 ≥ 30)



注：其中绿色为核心药物，蓝色为活性成分，橙色为靶标，红色为AGA疾病。

图5 核心药物-活性成分-靶标-AGA 疾病网络图

2.9 PPI网络构建 将核心药物组作用靶点与AGA疾病靶点导入Venny2.1.0在线平台取交集,药物-疾病交集靶点共有69个。(见图6)将核心药物组与AGA疾病交集靶点上传至String数据库进行PPI分析,得到中药活性成分作用于AGA疾病的PPI网络。结果显示69个靶标组成的网络中共存在179项相互作用,平均局部聚类系数为0.546,PPI富集 $P<1.0\times 10^{-16}$ 。

将结果导入Cytoscape 3.10.2软件,利用Network Analysis构建高可信度PPI网络。(见图7)结果显示网络节点图形越大表明其对应的度值越大。以节点度值为评价参数,节点度值越大说明其在PPI网络中越重要,可能在发挥生物学功能中起着重要的作用。度中心性排名前10(度值 ≥ 10)的靶点为RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(RAC-alpha serine/threonine-protein kinase,AKT1)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta,IL-1 β)、雄激素受体(estrogen receptor,ESR1)、转录因子Jun(transcription factor Jun,JUN)、组蛋白乙酰转移酶p300

(histone acetyltransferase p300,EP300)、凋亡调节因子Bcl-2(apoptosis regulator Bcl-2,BCL2)、Caspase-3(caspase-3,CASP3)、Aldo-酮还原酶家族1成员C3(aldo-ketoreductase family 1 member C3,AKR1C3)、转化生长因子 β -1丙基蛋(transforming growth factor beta-1 proprotein,TGFB1)、造血前列腺素D合成酶(hematopoietic prostaglandin D synthase,HPGDS)。这些基因在网络中占据重要地位,提示这些靶点可能是核心药物组治疗AGA疾病发挥功效的关键靶点。

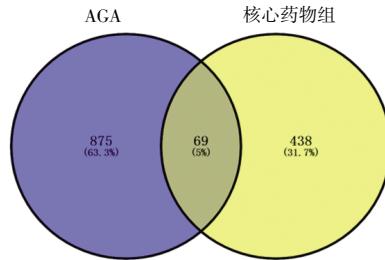
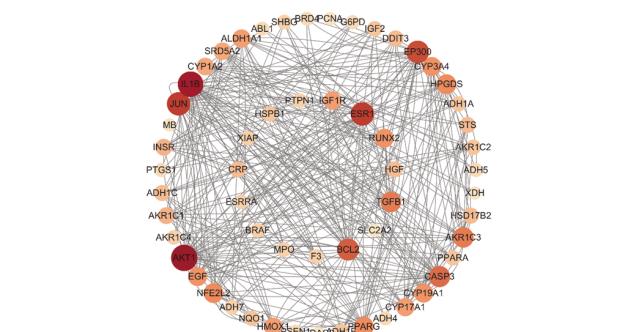


图6 疾病靶点与核心药物组靶点的交集



注：圆圈的颜色从红色到浅粉色表示程度降低，度值越大，基因与其他基因的连接程度越大，效果越大。

图7 PPI 网络图

2.10 GO及KEGG富集分析 将69个潜在作用靶点在线导入Metascape网站,限定物种为人,设定阈值为 $P<0.01$,进行GO和KEGG富集分析。GO分析富集共得到生物过程(biological-process,BP)条目共279个,细胞组分(cellular components,CC)条目6个,以及分子功能(molecular functions,MF)条目共71个。GO分析结果表明,相关靶点主要涉及激素水平的调节(regulation of hormone levels)、激素新陈代谢过程(hormone metabolic process)、烯烃化合物代谢过程(olefinic compound metabolic process)、有机羟基化合物代谢过程(organic hydroxy compound metabolic process)、对激素的反应(response to hormone)等生物过程,参与氧化还原酶活性(oxidoreductase activity)、作用于CH-OH基团供体(acting on CH-OH group of donors)、NAD或NADP作为受体(NAD or NADP as acceptor)、锌依赖性(zinc-dependent)、醇脱氢酶(NAD $^{+}$)活性(alcohol dehydrogenase [NAD(P) $^{+}$] activity)等分子功能,与转录调节复合物(transcription regulator complex)、血小板 α 颗粒管腔(platelet alpha granule lumen)、血小板 α 颗粒(platelet alpha granule)、分泌颗粒管腔(secretory granule lumen)、细胞质囊腔(cytoplasmic vesicle lumen)、囊泡内腔(vesicle lumen)等细胞组分密切相关。(见图8)

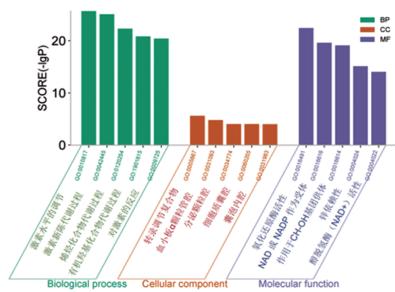


图8 GO富集分析

KEGG富集分析 $P<0.01$ 的目录有63个,显著性最高的前20个通路见图9。核心药物组合治疗AGA的主要靶点重点涉及癌症的发病途径(Pathways in cancer)、MAPK信号通路(MAPK signaling pathway)、化学致癌-受体激活(Chemical carcinogenesis-receptor activation)、乙型肝炎(Hepatitis B)、肝癌(Hepatocellular carcinoma)、非酒精性脂肪肝(Non-alcoholic fatty liver disease)、HIF-1信号通路(HIF-1 signaling pathway)、化学致癌物质——活性氧(Chemical carcinogenesis-reactive oxygen species)、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、酒精性肝病(Alcoholic liver disease)、前列腺癌(Prostate cancer)、大肠癌(Colorectal cancer)、卵巢类固醇生成(Ovarian steroidogenesis)、药物代谢-细胞色素P450(Drug metabolism-cytochrome P450)、丙酮酸代谢(Pyruvate metabolism)、细胞色素P450对异种生物的代谢作用(Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450)、视黄醇代谢(Retinol metabolism)、脂肪酸降解(Fatty acid degradation)、类固醇激素的生物合成(Steroid hormone biosynthesis)和酪氨酸代谢(Tyrosine metabolism)等信号通路等。“核心药物-有效活性成分-靶点-通路-AGA疾病”可视化网络见图10。

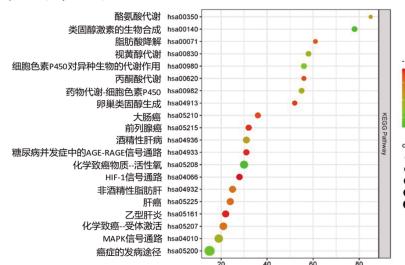
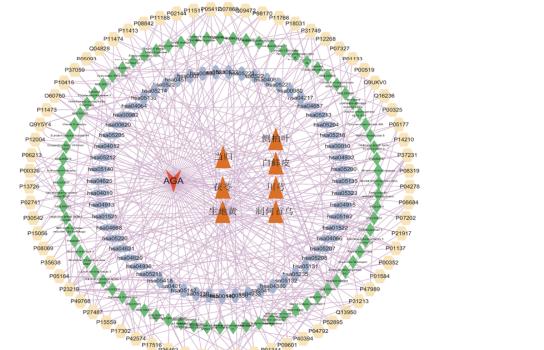


图9 KEGG气泡通路图



注:粉色六边形为靶点,绿色四边形为有效活性成分,蓝色圆形为通路,橙色三角形为核心药物,红色倒三角形为AGA疾病。

图10 核心药物-有效活性成分-靶点-通路-AGA疾病网络图

2.11 分子对接 选择PPI网络中介数中心性排名前10位的核心靶蛋白(IL-1 β 、CYP19A1、AKT1、HPGDS、ESR1、PTGS1、EP300、AKR1C3、CYP3A4和BCL2)与度中心性排名前5位的核心活性成分进行分子对接验证。(见表5)

热图可直观地展示分子对接结果,结合能小于-5 kcal/mol表明蛋白质与小分子具有更好的结合活性。AKR1C3与kaempferol、quercetin分子通信良好,核心药物组的活性成分可以对核心靶点起到调节作用。(见图11)

利用CB-Dock2在线平台进行验证,图12显示了前5个结合能的对接结果,描绘了蛋白质内配体的结合位置,展示了配体和残基之间的相互作用。

分子对接结果显示这些活性成分与AKR1C3、EP300、HPGDS等多个靶点具有良好亲和力,涉及多个生理过程,可能在治疗AGA中发挥重要作用。其中调节AKR1C3活性可有效干预雄激素合成,减缓或逆转AGA疾病的进程。

表5 核心药物组合活性成分(度中心性排名前5)

序号	活性成分	来源中药
1	山柰酚(kaempferol)	侧柏叶
2	槲皮素(quercetin)	白鲜皮
3	丁子香酚(eugenol)	生地黄
4	油酸(oleic acid)	制何首乌
5	褪黑素(melatonin)	生地黄

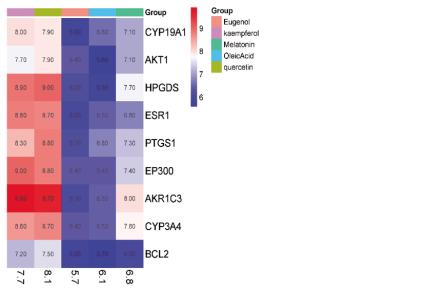


图11 分子对接热图

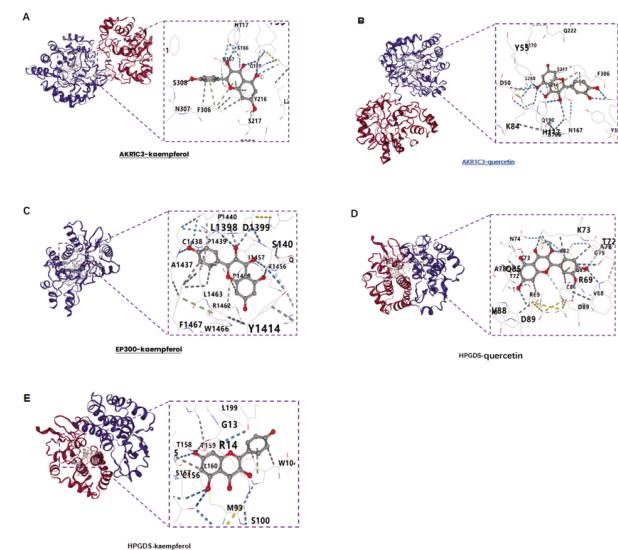


图12 潜在靶点与活性成分的分子对接图

3 讨论

治疗AGA的常用药物包括当归、制何首乌、川芎、熟地黄、女贞子、侧柏叶、生地黄和墨旱莲。主要药性为补益和活

血,多以温性为主,可温补阳气。这些药物具有补肝肾、益气养血、活血化瘀的功效。药味以辛、苦为主,辛味药能够行气活血,常用于治疗气血不畅;苦味药则具有清泄风热、泄降气逆、燥湿等多种作用,适用于热证、湿证及阴虚火旺。药物多归于胆经、膀胱经和胃经。胆经参与调节体内气机的升降出入,与维持肝胆功能的正常密切相关;膀胱经主管体液的运行和排泄,与肾的功能密切相关;胃经则与消化吸收功能相关。这些经络的作用使得所涉及的中药能够调节全身的气血平衡,改善脏腑功能,达到整体治疗的效果。

关联规则分析表明,治疗AGA常用药物组合为当归-菟丝子、制何首乌-枸杞子等,以补益药和活血药为主,符合AGA发病机制,即虚者主要是由于肝或气血不足,实者则多为风湿热瘀^[28]。瓦尔德聚类分析结果显示,聚一类中药以补虚药和活血药为主。聚一类第3组的川芎、生地黄、制何首乌、侧柏叶、茯苓、当归、白鲜皮等药出现频率明显较高。川芎可行气开郁,祛除风燥湿,活血止痛;生地黄可清热凉血,养阴生津;制何首乌补肝肾,益精血,乌须发,强筋骨;侧柏叶可凉血止血,化痰止咳,生发乌发^[29];茯苓可利水渗湿,健脾宁心;当归可补血活血,调经止痛,润燥滑肠;白鲜皮可清热燥湿,祛风止痒,解毒^[30]。

核心药物组活性成分主要包括山柰酚、槲皮素、丁子香酚、油酸和褪黑素,与靶点的关联度最高。有研究表明槲皮素能减少毛细血管脆性,增加冠脉血流量等作用,促进头部的血液循环^[31];山柰酚具有良好的抗菌活性^[32];丁子香酚可用作杀虫剂和防腐剂^[33];油酸可在肝细胞中激活蛋白激酶,防止心脏和肝脏组织损伤^[34];褪黑素^[35]有调节神经内分泌免疫活性和清除自由基抗氧化能力。这些均可能是治疗AGA的关键成分。

KEGG通路分析显示,类固醇激素生物合成、化学致癌物质、癌症发病途径等通路是核心药物组治疗AGA的主要作用通路。在这些通路中,AKR1C3、EP300、AKT1和HPGDS等靶点蛋白起着关键作用,与雄激素代谢、药物代谢、细胞生理和信号传导等相关。

在分子对接验证中AKR1C3与山柰酚结合能低,可通过调控激活钙离子通道引发细胞炎症因子的释放。AKR1C3是一种酮还原酶,可参与雄激素合成途径^[36]。AKR1C3在睾丸、前列腺和某些其他组织中高度表达,在睾丸中主要用于雄激素的合成。AKR1C3可将雄酮还原为睾酮,是雄激素合成过程中的关键步骤之一。AKR1C3也在其他组织中参与雌激素代谢和胆固醇代谢等生理过程。

大多数小分子结合发生在蛋白质口袋或空腔中,因此蛋白-配体结合位点和构象在药物发现中尤为重要^[37]。盲对接是获取这些信息的有力途径,其结果可用于未来的新药发现和研究^[38]。最小结合能是分子和蛋白质结合所需的最小能量,可以评价分子间结合能力的质量。分子对接验证显示,核心中药活性成分与靶点IL-1 β 、CYP19A1、AKT1、HPGDS、ESR1、PTGS1、EP300、AKR1C3、CYP3A4和BCL2具有良好的亲和力,其中AKR1C3与kaempferol、quercetin分子通信最好,kaempferol、quercetin分别为侧柏叶和白鲜皮的核心活性成分。分子对接

进一步验证了其治疗AGA的效果。

核心药物组中的侧柏叶、白鲜皮、生地黄、制何首乌在治疗AGA疾病中与疾病的靶点及通路都有极大的关联性。特别是生地黄、侧柏叶、白鲜皮值得更进一步的研究。

参考文献

- [1] KALIYADAN F, NAMBIAR A, VIJAYARAGHAVAN S. Androgenetic alopecia: An update[J]. Indian J Dermatol-Venereol Leprol, 2013, 79(5):613-625.
- [2] SEVERI G, SINCLAIR R, HOPPER J L, et al. Androgenetic alopecia in men aged 40-69 years: Prevalence and risk factors[J]. Br J Dermatol, 2003, 149(6):1207-1213.
- [3] WANG T L, ZHOU C, SHEN Y W, et al. Prevalence of androgenetic alopecia in China: A community-based study in six cities[J]. Br J Dermatol, 2010, 162(4):843-847.
- [4] STARACE M, ORLANDO G, ALESSANDRINI A, et al. Female androgenetic alopecia: An update on diagnosis and management[J]. Am J Clin Dermatol, 2020, 21(1):69-84.
- [5] OTBERG N, FINNER A M, SHAPIRO J. Androgenetic alopecia [J]. Endocrinology and metabolism clinics of North America, 2007, 36(2):379-398.
- [6] LEVY-NISSENBAUM E, BAR-NATAN M, FRYDMAN M, et al. Confirmation of the association between male pattern baldness and the androgen receptor gene[J]. Eur J Dermatol, 2005, 15(5):339-340.
- [7] SAWAYA M E, PRICE V H. Different levels of 5 α -reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia[J]. J Invest Dermatol, 1997, 109(3):296-300.
- [8] KUMAR N, RUNGSEEVIJITPRAPA W, NARKKHONG N A, et al. 5 α -reductase inhibition and hair growth promotion of some Thai plants traditionally used for hair treatment[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 139(3):765-771.
- [9] OSHIMA H, ROCHAT A, KEDZIA C, et al. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells[J]. Cell, 2001, 104(2):233-245.
- [10] COULTERI D. Evidence based complementary and alternative medicine : promises and problems [J]. Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine, 2007, 14(2):102-108.
- [11] 杨海锋.芪仁祛湿汤治疗湿热蕴结证雄激素性脱发疗效观察[J].新中医,2016,48(10):141-142.
- [12] 张璐璐,王志朋,张栋益.雄激素性脱发的非手术治疗进展[J].中国临床医生杂志,2020,48(9):1028-1031.
- [13] FINASTERIDE Male Pattern Hair Loss Study Group. Long-term (5-year) multinational experience with finasteride 1 Mg in the treatment of men with androgenetic-

- icalopecia[J]. Eur J Dermatol, 2002, 12(1):38–49.
- [14] CHEN D Y, YANG X Y, LIU X H, et al. Efficacy comparison of monotherapies and combination therapies for androgenetic alopecia: A Bayesian network meta-analysis[J]. Dermatol Ther, 2022, 35(3):e15262.
- [15] HAO J J, MITTELMAN M. Acupuncture: Past, present, and future[J]. Glob Adv Health Med, 2014, 3(4):6–8.
- [16] KAWASHIMA N, HU X C, ISHIKAWA N, et al. A combination of herbal formulas, acupuncture, and novel pine-needle stimulation for recurrent alopecia areata: A case report[J]. Medicine, 2021, 100(20):e26084.
- [17] World Federation of Chinese Medicine Societies. 网络药理学评价方法指南[J]. 世界中医药, 2021, 16(4):527–532.
- [18] HOPKINS A L. Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery[J]. Nature chemical biology, 2008, 4(11):682–690.
- [19] 胡志奇, 苗勇. 中国人雄激素性脱发诊疗指南[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019, 30(1):8–12.
- [20] LEEM J, JUNG W, KIM Y, et al. Exploring the combination and modular characteristics of herbs for alopecia treatment in traditional Chinese medicine: An association rule mining and network analysis study [J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1):204.
- [21] YOOK S H, OLTVAI Z N, BARABÁSI A L. Functional and topological characterization of protein interaction networks[J]. Proteomics, 2004, 4(4):928–942.
- [22] KANEHISA M, FURUMICHI M, SATO Y, et al. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes[J]. Nucleic Acids Res, 2023, 51(D1):D587–D592.
- [23] JACOB L, VERT J P. Protein-ligand interaction prediction: An improved chemogenomics approach [J]. Bioinformatics, 2008, 24(19):2149–2156.
- [24] LIU Y, YANG X C, GAN J H, et al. CB-Dock2: Improved protein-ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting[J]. Nucleic Acids Res, 2022, 50(W1):W159–W164.
- [25] HASSAN N M, ALHOSSARY A A, MU Y G, et al. Protein-ligand blind docking using QuickVina-W with inter-process spatio-temporal integration[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):15451.
- [26] LEE H S, ZHANG Y. BSP-SLIM: A blind low-resolution ligand-protein docking approach using predicted protein structures[J]. Proteins, 2012, 80(1):93–110.
- [27] CAO Y, LI L. Improved protein-ligand binding affinity prediction by using a curvature-dependent surface-area model[J]. Bioinformatics, 2014, 30(12):1674–1680.
- [28] 魏江易. 对雄激素性脱发中医病因病机的思索[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4):958–960.
- [29] 陈兴芬, 单承莺, 马世宏, 等. 侧柏叶化学成分、生理活性及防脱发功能研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(3):1–5.
- [30] 刘雷, 郭丽娜, 于春磊, 等. 白鲜皮化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药, 2016, 38(12):2657–2665.
- [31] KIM D H, KIM S Y, PARK S Y, et al. Metabolism of quercitrin by human intestinal bacteria and its relation to some biological activities[J]. Biol Pharm Bull, 1999, 22(7):749–751.
- [32] DEVI K P, MALAR D S, NABAVI S F, et al. Kaempferol and inflammation: From chemistry to medicine[J]. Pharmacol Res, 2015, 99:1–10.
- [33] MARCHESE A, BARBIERI R, COPPO E, et al. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint[J]. Crit Rev Microbiol, 2017, 43(6):668–689.
- [34] BHATTACHARJEE B, PAL P K, CHATTOPADHYAY A, et al. Oleic acid protects against cadmium induced cardiac and hepatic tissue injury in male wistar rats: A mechanistic study[J]. Life Sci, 2020, 244:117324.
- [35] TAI S Y, HUANG S P, BAO B Y, et al. Urinary melatonin-sulfate/cortisol ratio and the presence of prostate cancer: A case-control study[J]. Sci Rep, 2016, 6: 29606.
- [36] WANG S B, YANG Q, FUNG K M, et al. AKR1C2 and AKR1C3 mediated prostaglandin D2 metabolism augments the PI3K/Akt proliferative signaling pathway in human prostate cancer cells[J]. Mol Cell Endocrinol, 2008, 289(1/2):60–66.
- [37] LI X, KESKIN O, MA B Y, et al. Protein-protein interactions: Hot spots and structurally conserved residues often locate in complemented pockets that pre-organized in the unbound states: Implications for docking[J]. J MolBiol, 2004, 344(3):781–795.
- [38] STANK A, KOKH D B, FULLER J C, et al. Protein binding pocket dynamics[J]. AccChem Res, 2016, 49(5): 809–815.

(收稿日期: 2024-08-07 编辑: 蒋凯彪)