

二至丸治疗脂溢性脱发的生物信息学研究

彭涛¹,李艳伟²,李东娜²,郭虹¹

(1. 天津中医药大学 省部共建组分中药国家重点实验室,天津 301617;2. 天津中医药大学 天津市现代中药海河实验室,天津 301617)

摘要:基于网络药理学和分子对接探讨二至丸治疗脂溢性脱发的作用机制.通过 TC MSP 数据库检索和收集二至丸的药物成分信息,通过 Disgenet,TTD,OMIM,Genecards,Drugbank 等数据库收集脂溢性脱发相关疾病靶点,利用 Swiss Target Prediction 预测药物活性成分靶点,并获取活性药物成分和疾病的共同靶点,运用 String 数据库、Cytoscape3.7.2 软件构建 PPI 网络图,通过 Metascape 数据库进行 GO 生物注释和 KEGG 通路富集分析,并用 Cytoscape3.7.2 进行可视化,构建靶点和通路网络图.收集并筛选到二至丸活性成分 15 个、靶点 170 个,与脂溢性脱发相关的靶点 533 个,共同靶点 44 个,其中 AKT1、VEGFA、IL6、TNF、PPARG、ERBB2、ESR1 的相互作用最显著,其参与了 RNA 聚合酶 II 启动子调控、癌症通路、脂质与动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路、前列腺癌、膀胱癌、肿瘤坏死因子信号通路、癌症中的蛋白聚糖等 147 条信号通路.二至丸可以通过抑制体内炎症发生,改善毛囊细胞氧化应激反应,调节脂质和滋补肝肾、促进头皮局部血管新生等机制治疗脂溢性脱发,体现出了二至丸在治疗脂溢性脱发上的多成分、多靶点、多通路的药效特点.

关键词:二至丸;网络药理学;分子对接;脂溢性脱发

中图分类号:R285 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)03-0335-10

脂溢性脱发(seborrheic alopecia, SA),也称雄激素性脱发,主要发生在成年男性,据统计目前全国约有 2.5 亿人面临着脂溢性脱发的困扰^[1],脂溢性脱发在所有脱发类型中发病率最高,在现在的研究中大部分学者专家认为脂溢性脱发是与体内雄激素水平有关系^[2],其调节的具体机制尚不明确,另外还有体质肥胖等因素导致毛囊干细胞萎缩以及毛囊细小化引起脂溢性脱发^[3],脂溢性脱发在中医上主要归因于湿热内生,肝肾亏虚等原因^[4].脂溢性脱发初期的症状主要是头发油腻、稀少、发际线后移并伴有头皮瘙痒、头顶和前端出现明显脱发等^[2],严重影响着现代人的生活质量.

二至丸源于《扶寿精方》^[5],方由女贞子和墨旱莲组成,具有滋补肝肾、滋阴养血的功效,脂溢性脱发很大程度上是由于肝肾亏虚、体内雄激素水平升

高引起的,根据二至丸药理活性研究表明,二至丸具有滋补肝肾和雌激素样作用^[6].黄仁坤等^[7]通过内服祛湿生发汤,治疗 12 周后,脂溢性脱发治愈率能够达到 94.44%,表明二至丸在治疗脂溢性脱发上具有突出疗效.叶建州教授使用二至丸合丹栀逍遥散,治疗肝郁脾虚型脂溢性脱发,促进了毛发再生^[8].谭素芳等^[9]使用祛脂生发汤治疗脂溢性脱发,方用二至丸配伍加减,治疗 4 周后,治愈率为 90.24%,表明祛脂生发汤治疗脂溢性脱发疗效明显.国医大师禩国维认为二至丸具有治疗脂溢性脱发的作用,运用二至丸合六味地黄汤为基础方治疗肝肾不足型脂溢性脱发,使肝肾得到滋养,毛发生长才能旺盛^[10].牛蔚露等^[11]通过数据挖掘名老中医治疗不同类型脱发的用药规律中发现二至丸是治疗脱发方剂中使用频率最高的.

收稿日期:2022-07-14.

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1706804).

作者简介:彭涛(1996-),男,硕士研究生.主要从事脂溢性脱发相关研究.

通信作者:郭虹(1981-),女,博士,副研究员.主要从事中药药理学相关研究.

因此,本文通过网络药理学和分子对接技术探索二至丸在治疗脂溢性脱发上的机制,以期有二至丸治疗临床脂溢性脱发提供现代分子生物学解释。

1 方法

1.1 二至丸成分筛选和靶点建立

通过 TCMSp 数据库^[12] (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>),以口服生物利用度(OB)≥30%、类药性(DL)≥0.18 为筛选条件,检索收集二至丸中“墨旱莲、女贞子”的有效成分,并在 TCMSp 数据库中收集成分对应的靶点数据,剔除无靶点成分,并通过 Uniprot^[13] 数据库规范靶点名称,将两味药物靶点合并去重最终得到成分靶点。

1.2 疾病靶点建立

以关键词“Seborrheic Alopecia、androgenetic alopecia、alopecia”在 GeneCards^[14] 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 检索,选取 Relevance score ≥5 的靶点,在 DisGeet 数据库^[15] (<https://www.disgeet.org/>) 选取 Score ≥0.1 的疾病靶点,另外利用 drugbank 数据库^[16] (<https://go.drugbank.com>),OMIM 数据库^[17] (<https://omim.org/>),TTD 数据库^[18] (<http://db.idrblab.net/ttd/>),收集筛选脂溢性脱发疾病相关靶点并去除重复靶点最终得到 533 个脂溢性脱发的相关靶点。最后借助 Draw Venn 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) 将“墨旱莲、女贞子”药物成分靶点与脂溢性脱发靶点进行交集,得到二者交集靶点。

1.3 二至丸成分-脂溢性脱发靶点(PPI)网络构建

将二至丸成分靶点与脂溢性脱发疾病靶点的交集靶点导入 STRING^[19] 在线网站构建 PPI 网络,下载 TSV 文件,将蛋白互作信息导入 Cytoscape 3.7.2 软件^[20],进行网络可视化分析。

1.4 共同靶点 GO、KEGG 注释和富集分析

将 44 个共同靶点导入 Metascape^[21] (<https://metascape.org/gp/index.html#>) 输入筛选后的靶点基因,依据 $P < 0.01$,筛选二至丸治疗脂溢性脱发的 GO 富集分析和 KEGG 通路分析,得到 GO Cellular Components (CC) 51 个、GO Biological Processes (BP) 1 500 个及 GO Molecular Functions (MF) 119 个,取 $\log_{10}(P)$ 值,使用 Excel, power 命令“=power(10,x)”转化为 P 值,采用“微生信”线上网站绘制气泡图,其中 P 值大小表示富集程度的高低,依据 P 值对 CC、PB、MF 分别取前 10 构建气泡图,Count 值决定气泡的大小, X 轴为该生物富集关联基因数与 GO 富集总基因数的比值, Y 轴为 CC、BP、MF 的 P 值前 10 的靶点名称。

1.5 网络构建

采用 Cytoscape 3.7.2 软件进行构建“中药-成分-靶点”网络图和“靶点-通路”网络图;联合 STRING 在线网站,绘制 PPI 核心靶点网络图。

1.6 分子对接

通过上文在 TCMSp 数据库搜检索的二至丸中“女贞子和墨旱莲”的有效成分,在 PubChem 数据库^[22] 中找到有效成分的 3D 结构信息,通过 PDB 数据库^[23] (<https://www.rcsb.org/>) 下载靶点蛋白结构,使用 Discovery Studio 软件对靶蛋白和成分小分子进行处理,处理完成后开始对接。

2 结果

2.1 二至丸成分库建立和筛选

在 TCMSp 数据库中检索并收集二至丸的有效成分,整理和去重之后得到 15 个成分,女贞子(NZZ)的成分有 9 个,墨旱莲(MHL)的成分有 8 个,有 2 个共有成分,见表 1。

表 1 TCMSp 二至丸有效成分

Mol ID	成分	OB/%	DL	Drug
MOL000358	β -sitosterol	36.91	0.75	NZZ
MOL000422	kaempferol	41.88	0.24	NZZ
MOL004576	taxifolin	57.84	0.27	NZZ
MOL005147	lucidumoside D _{qt}	54.41	0.47	NZZ
MOL005190	eriodictyol	71.79	0.24	NZZ
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	NZZ
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	NZZ
MOL003404	wedelolactone	49.6	0.48	MHL
MOL003402	demethylwedelolactone	72.13	0.43	MHL
MOL003398	pratensein	39.06	0.28	MHL

续表 1

Mol ID	成分	OB/%	DL	Drug
MOL003389	3'-O-methylorobol	57.41	0.27	MHL
MOL002975	butin	69.94	0.21	MHL
MOL001689	acacetin	34.97	0.24	MHL
MOL000098	quercetin	46.43	0.28	MHL
MOL000006	luteolin	36.16	0.25	MHL

2.2 “成分-疾病”靶点库的建立和筛选

在TCMSP数据库中得到二至丸的有效成分(见表2),再将这些成分对应的“Target”进行筛选和去重,将得到的“Target”导入Uniprot数据库,找到对应成分靶点,最终收集到女贞子(NZZ)靶点167个,墨旱莲(MHL)靶点151个,A1、B1是两者共有成分,两者合并去重后得到二至丸有效药物靶点170个。以“sebborheic alopecia、androgenetic alopecia、alopecia”为

检索词,通过GeneCards数据库检索得到关于脂溢性脱发的靶点1755个,通过筛选后最终得到533个靶点。将所得二至丸成分与成分对应靶点导入Cytoscape 3.7.2构建网络图(见图1),可见药物成分B1(MOL000098, quercetin, 槲皮素), A1(MOL000006, luteolin, 木犀草素), NZZ2(MOL000422, kaempferol, 山奈酚)等可能是二至丸药物的关键成分。(表示药物靶点,表示药物成分,表示药物)。

表2 二至丸有效成分表

靶点	Mol ID	成分	中文名
NZZ1	MOL000358	β -sitosterol	β -谷甾醇
NZZ2	MOL000422	kaempferol	山奈酚
NZZ3	MOL004576	taxifolin	二氢槲皮素
NZZ5	MOL005147	lucidumoside D _{qt}	灵芝苷
NZZ6	MOL005190	eriodictyol	乙酸熊果酸
MHL1	MOL003404	wedelolactone	膨琪菊内酯
MHL2	MOL003402	demethylwedelolactone	去甲基膨琪内酯
MHL3	MOL003398	pratensein	红车轴草素
MHL4	MOL003389	3'-O-methylorobol	3'-O-甲基香豌豆苷元
MHL6	MOL002975	butin	紫柳素
MHL8	MOL001689	acacetin	刺槐素
A1	MOL000006	luteolin	木犀草素
B1	MOL000098	quercetin	槲皮素

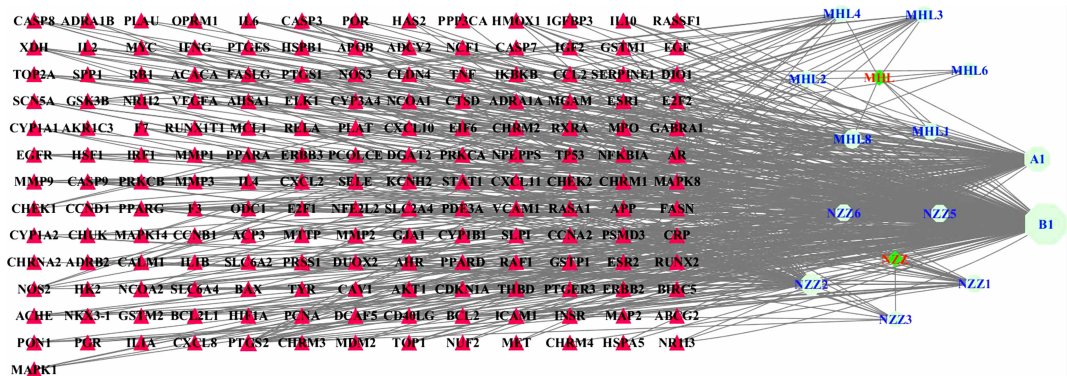


图1 二至丸药物与成分靶点网络图

使用 Draw Venn 网站(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)将“墨旱莲、女贞子”药物成分靶点与脂溢性脱发靶点进行交集,做出 Venn 图,见图 2,得到女贞子与脂溢性脱发靶点交集 46 个靶点,墨旱莲与脂溢性脱发有 47 个交集靶点,三者共同交集靶点共 44 个,见表 3,交集靶点名称,见表 4。

2.3 共有靶点富集分析

将共有的 44 个靶点导入 Metascape 数据库中,进行 KEGG 通路富集和 GO 功能富集分析,其中 GO 分析包含 GO Cellular Components(CC)细胞组分 51 项,GO Biological Processes(BP)生物过程 1 500 项和 GO Molecular Functions(MF)分子功能 119 项分析,

依据 $-\log(P)$ 值使用 Excel 表格函数(=Power10, X)转为 P 值后,由大到小排序,分别取前 10 项作图(如图 3~5)。

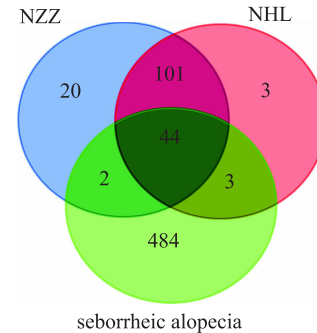


图 2 二至丸成分与脂溢性脱发靶点 Venn 图

表 3 二至丸药物成分与脂溢性脱发交集靶点

名称	数量	靶点
MHL NZZ seborrheic alopecia	44	XDH、MET、GJA1、IL10、MAPK1、IGF2、MDM2、EGFR、IL2、ERBB2、IFNG、IL4、BCL2、ICAM1、CAV1、PPARG、CHEK2、CRP、RB1、CXCL8、AHR、ODC1、CXCL10、TP53、TNF、INSR、RAF1、EGF、IL1A、CDKN1A、AKT1、SPP1、IL1B、ESR1、IGFBP3、PTGS1、VEGFA、AR、CCL2、MMP1、STAT1、CYP3A4、IL6、PRSS1
MHLseborrheic alopecia	3	FASLG、NCOA1、ESR2
NZZseborrheicalopecia	2	NR3C2、PGR

表 4 二至丸成分与脂溢性脱发交集靶点名称

交集靶点	蛋白名	名称
XDH	xanthine dehydrogenase/oxidase	黄嘌呤脱氢酶
MET	hepatocyte growth factor receptor	肝细胞生长因子受体
GJA1	gap junction alpha - 1 protein	缝隙连接 α -1 蛋白
IL10	interleukin - 10	白细胞介素 - 10
MAPK1	mitogen - activated protein kinase 1	丝裂原活化蛋白激酶
IGF2	insulin - like growth factor II	胰岛素样生长因子 2
MDM2	E3 ubiquitin - protein ligase Mdm2	泛素蛋白连接酶
EGFR	epidermal growth factor receptor	表皮生长因子受体
IL2	interleukin - 2	白细胞介素 - 2
ERBB2	receptor tyrosine - protein kinase erbB - 2	受体酪氨酸蛋白激酶
IFNG	interferon gamma, IFN - gamma	干扰素 γ
IL4	interleukin - 4	白细胞介素 - 4
BCL2	apoptosis regulator Bcl - 2	凋亡调节因子
ICAM1	intercellular adhesion molecule 1	细胞间粘附分子
CAV1	caveolin - 1	小窝蛋白 - 1
PPARG	peroxisome proliferator - activated receptor gamma	过氧化物酶体增殖物激活受体
CHEK2	serine/threonine - protein kinase Chk2	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶
CRP	C - reactive protein	C 反应蛋白
RB1	retinoblastoma - associated protein	视网膜母细胞瘤相关蛋白
CXCL8	interleukin - 8, IL - 8	白细胞介素 - 8
AHR	aryl hydrocarbon receptor	芳香烃受体
ODC1	ornithine decarboxylase	鸟氨酸脱羧酶
CXCL10	C - X - C motif chemokine 10	C - X - C 基序趋化因子 10

续表 4

交集靶点	蛋白名	名称
TP53	cellular tumor antigen p53	细胞肿瘤抗原
TNF	tumor necrosis factor	肿瘤坏死因子
INSR	insulin receptor	胰岛素受体
RAF1	RAF proto - oncogene serine/threonine - protein kinase	原癌基因丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶
EGF	pro - epidermal growth factor	前表皮生长因子
IL1A	interleukin - 1 alpha	白细胞介素 - 1 α
CDKN1A	cyclin - dependent kinase inhibitor 1	细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂
AKT1	RAC - alpha serine/threonine - protein kinase	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶
SPP1	osteopontin	骨桥蛋白
IL1B	interleukin - 1 beta	白细胞介素 - 1 β
ESR1	ethylene - responsive transcription factor	转录因子
IGFBP3	insulin - like growth factor - binding protein 3	胰岛素样生长因子结合蛋白 3
PTGS1	prostaglandin G/H synthase 1	前列腺素 G/H 合酶 1
VEGFA	vascular endothelial growth factor A	血管内皮生长因子 A
AR	androgen receptor	雄激素受体
CCL2	C - C motif chemokine 2	C - C 基序趋化因子 2
MMP1	interstitial collagenase ,	间质胶原酶
STAT1	signal transducer and activator of transcription 1	信号转导和转录激活因子
CYP3A4	cytochrome P450 3A4	细胞色素 P450 3A4
IL6	interleukin - 6	白细胞介素 - 6
PRSS1	serine protease 1	丝氨酸蛋白酶

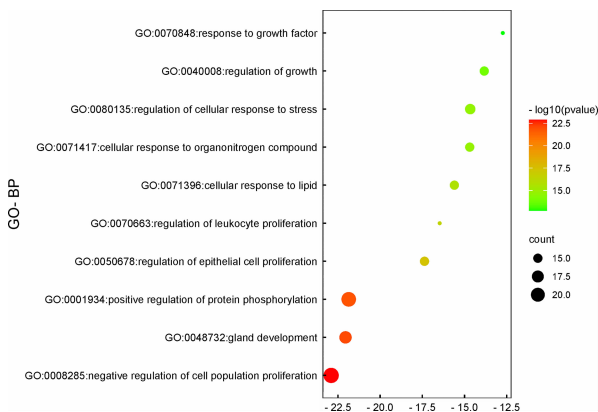


图 3 共有靶点 GO - BP 分析

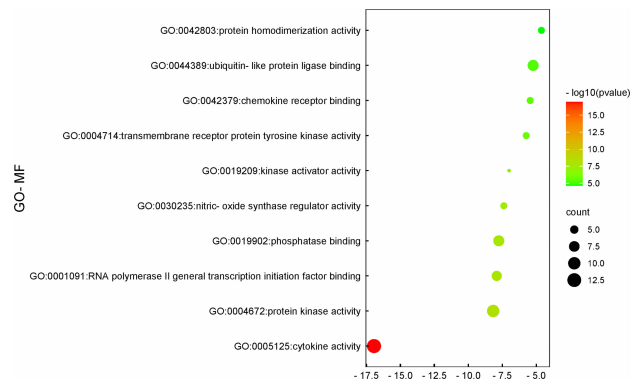


图 4 共有靶点 GO - MF 分析

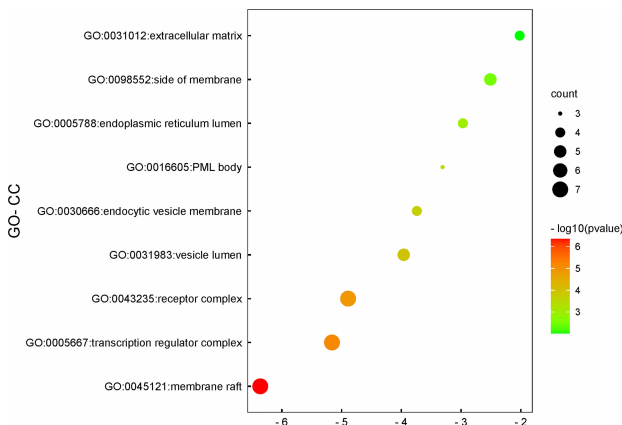


图 5 共有靶点 GO - CC 分析

在 GO - CC 功能富集分析中显示,这些共有靶点可能调控了细胞膜物质进出、细胞核蛋白转录以及细胞质中生物物质的代谢,GO - BP 中显示这些共有靶点调控细胞群的增殖,调控蛋白质磷酸化,调控上皮细胞的增殖,调控白细胞的增殖,调控细胞脂质代谢以及细胞凋亡等生物功能,GO - MF 中显示这些共有靶点所具有的分子功能主要调控细胞因子活性,调控蛋白激酶活性,调控 RNA 聚合酶,调控表皮生长因子受体,以及趋化因子等生物进程。

44 个共有靶点进行 KEGG 富集分析后得到 147 条通路,依据 $-\log(P)$ 值转化为 P 值后排序,取前

20 位信号通路分析(图 6),结果发现这些共有靶点主要参与通路有:癌症通路, Akt 蛋白合成激酶通路, MAPK 信号蛋白激酶通路, 调控癌症蛋白多糖通路, 人乳头瘤病毒感染通路, 癌症受体通路, JAK - STAT 信号通路, FOXO 信号通路, 络氨酸激酶抑制通路, 黑素瘤通路, HIF - 1 缺氧诱导因子通路等多种相关疾病通路.

44 个共有靶点与 KEGG 前 20 条通路信息导入 Cytoscape 3. 7. 2 构建“靶点 - 通路网络图”(图 7), 外围圆圈是通路, 中间矩阵是共有靶点, 其中菱形颜色深浅表示通路与靶点之间的连接紧密程度, 结果

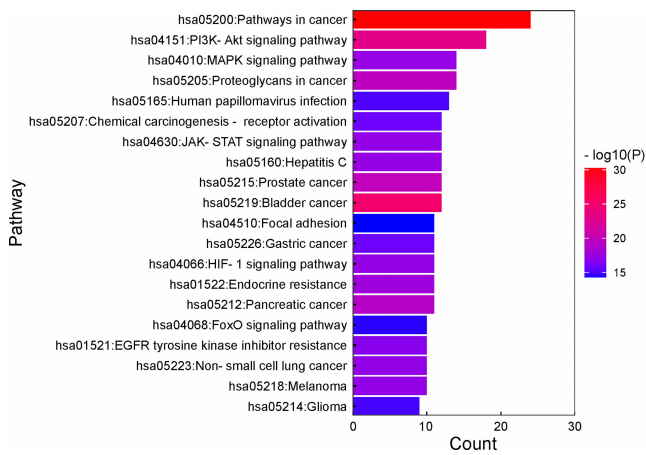


图 6 共有靶点与 KEGG

发现:共同靶点参与的信号通路以癌症途径, Akt 蛋白合成激酶通路, MAPK 信号蛋白激酶通路, 调控癌症蛋白多糖通路, 人乳头瘤病毒感染通路, 癌症受体通路, JAK - STAT 信号通路等为主. 由此说明, 二至丸可能通过以上通路发挥治疗作用.

2. 4 筛选核心靶点

通过 STRING^[19] 在线网站构建 PPI 网络, 下载 TSV 文件, 得到共有靶点 PPI 互作网络信息(图 8), 导入 Cytoscape 3. 7. 2 软件进行网络可视化分析, 通过筛选“degree”值为分子对接提供核心靶点信息(图 9).

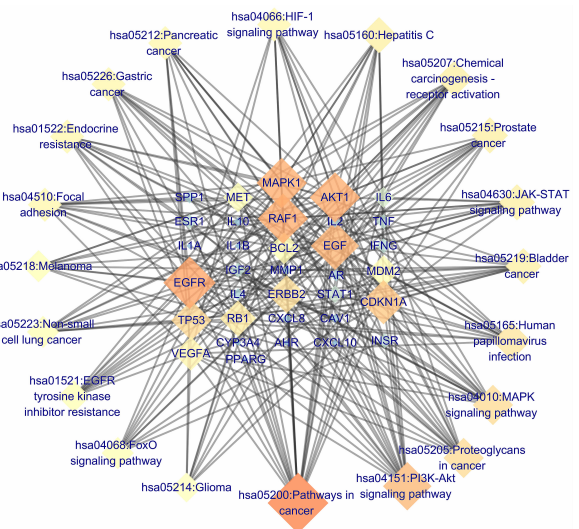


图 7 “靶点 - 通路”网络图

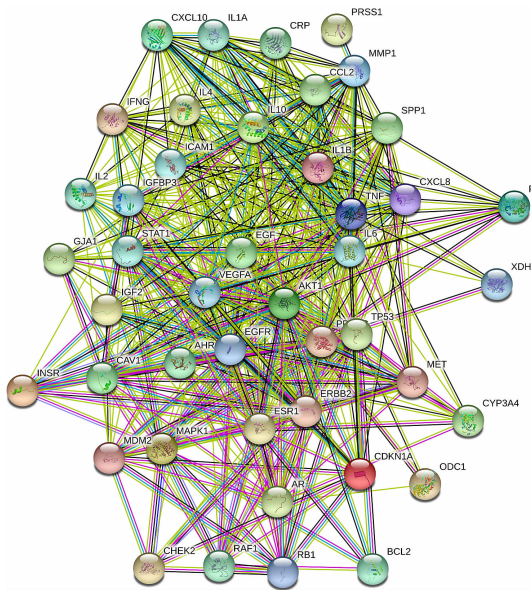


图 8 共有靶点 PPI 网络图

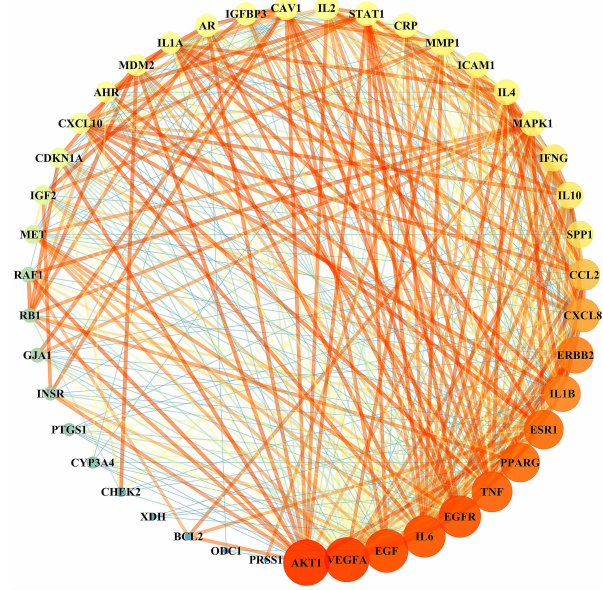


图 9 核心靶点网络图

2. 5 分子对接结果

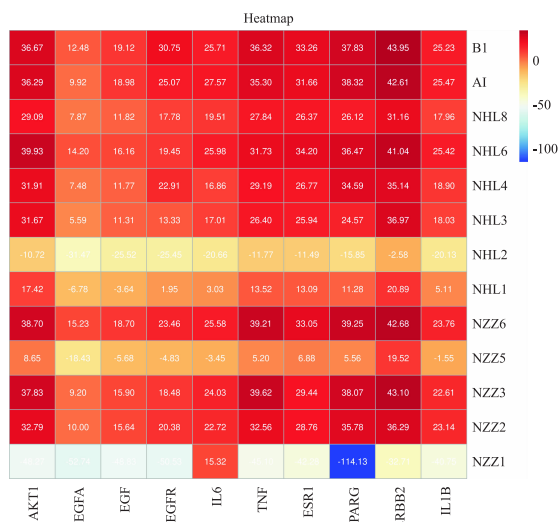
由网络药理学整理的核心靶点结果进一步分析,

通过交集核心靶点二倍 degree 值(≥ 32)进行筛选, 得到 10 个核心靶点与核心药物成分做分子对接(表 5).

表5 核心靶点表

gene	degree 值	gene	degree 值
AKT1	39	IL2	23
VEGFA	38	STAT1	23
EGF	37	AR	22
EGFR	36	IGFBP3	22
IL6	36	IL1A	21
TNF	35	MDM2	21
ESR1	34	AHR	20
PPARG	34	CXCL10	20
ERBB2	32	CDKN1A	19
IL1B	32	IGF2	18
CXCL8	30	MET	17
CCL2	28	RAF1	14
IFNG	25	GJA1	13
IL10	25	RB1	13
SPP1	25	INSR	11
ICAM1	24	CYP3A4	10
IL4	24	PTGS1	10
MAPK1	24	CHEK2	8
MMP1	24	BCL2	5
CAV1	23	ODC1	4
CRP	23	XDH	4

通过网络药理学结果显示二至丸成分中“β-谷甾醇、山奈酚、二氢槲皮素、灵芝苷、乙酸熊果酸、膨螞菊内酯、红车轴草素、3'-O-甲基香豌豆苷元、紫柳素、刺槐素、木犀草素、槲皮素”等成分可能是二至丸治疗脂溢性脱发的主要成分,通过分子对接技术来对网络药理学结果进行验证,筛选核心靶点中“degree”值,取排名靠前的10个靶点与二至丸主要成分进行对接,最后得到结合能进行分析,结合能为负值,得到的结果越大,表示能量越低,靶点与分子结合得更稳定,两者发生结合的几率就会越大.根据图10结果显示,其中来自墨旱莲的ML6(butin紫柳素)、ML4(3'-O-Methylorobol 3'-O-甲基香豌豆苷元)、ML3(pratensein红车轴草素)、ML2和女贞子中的成分NZZ6(eriodytyol乙酸熊果酸)、NZZ3(taxifolin二氢槲皮素)、NZZ2(kaempferol山奈酚)、以及共有成分A1(luteolin木犀草素)、B1(quercetin槲皮素)这8个成分与ATK1、TNF、PPARG、ERBB2等靶蛋白结合较好,表明以上二至丸有效成分可能是治疗脂溢性脱发的关键成分,部分分子对接结果见图11.



NZZ1: β-谷甾醇; NZZ2: 山奈酚; NZZ3: 二氢槲皮素; NZZ5: 灵芝苷; NZZ6: 乙酸熊果酸; MHL1: 膨螞菊内酯; MHL2: 去甲基膨螞菊内酯; MHL3: 红车轴草素; MHL4: 3'-O-甲基香豌豆苷元; MHL6: 紫柳素; MHL8: 刺槐素; A1: 木犀草素; B1: 槲皮素

图10 核心靶点分子对接热图

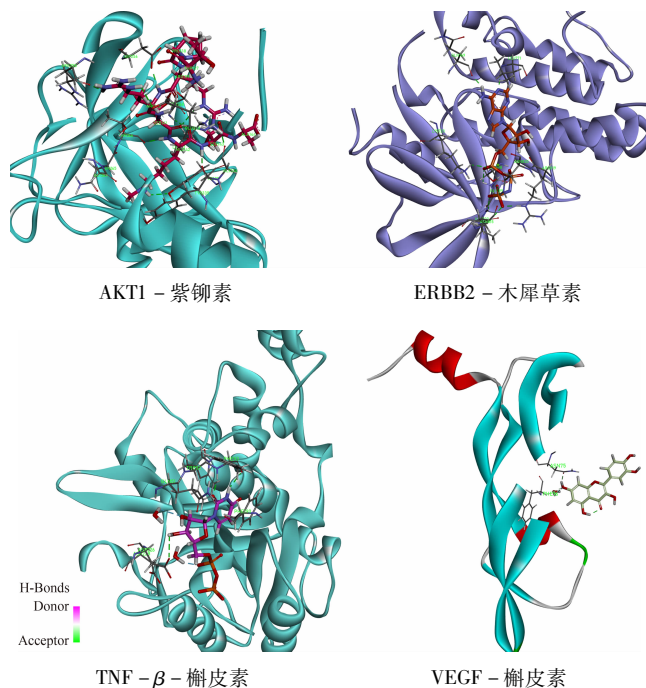


图11 部分分子对接结果图

3 讨论与结语

3.1 二至丸治疗脂溢性脱发的药物成分分析

从网络药理学结果显示,女贞子中β-谷甾醇、山奈酚、二氢槲皮素、灵芝苷、乙酸熊果酸、墨旱莲中膨螞菊内酯、去甲基膨螞菊内酯、红车轴草素、3'-O-甲基香豌豆苷元、紫柳素、刺槐素、以及共有成分A1(木犀草素)、B1(槲皮素)等成分可能是二至丸的主要成分,分子对接结果显示山奈酚、二氢槲皮素、乙

酸熊果酸、红车轴草素、3'-O-甲基香豌豆苷元、紫柳素、以及木犀草素、槲皮素等与靶点 AKT1、TNF、IL6、PPARG、ERBB2、ESR1 具有较强的结合能力。

槲皮素 近年来大量研究发现槲皮素通过清除体内自由基具有显著的抗氧化及调节炎症的作用,可以降低如:IL-1、IL-6 及 TGF- β 等炎症因子的表达。其次槲皮素还具有很强的广谱抗菌活性^[24]。

木犀草素 近年来发现,木犀草素能够降低体内各种炎症因子,具有良好的抗炎作用,此外木犀草素还具有很强的抗菌活性,能够破坏细菌细胞壁结构,杀死细菌。同时木犀草素能够通过抑制过氧化酶的活性,达到抗氧化的目的^[25]。

此外其他成分如紫柳素,有研究表明紫柳素^[26]能够促进黑素细胞合成并分泌黑素,红车轴草素^[27]有明显的雌激素样作用,乙酸熊果酸^[28]有明显的保肝护肝的功效,有研究表明山奈酚^[29]对体内多种代谢酶具有调节作用,对损伤的细胞具有很强的修复和保护作用。

以上二至丸成分药理作用表明,二至丸有效成分可能减轻脂溢性脱发的炎症反应,减少毛囊细胞的氧化应激以及毛囊细胞的衰老和凋亡,能够达到治疗脂溢性脱发的目的^[6]。

3.2 二至丸治疗脂溢性脱发的关键靶点分析

通过网络药理学和分子对接结果显示,ATK1、TNF、IL6、PPARG、ERBB2、ESR1 等靶点可能是二至丸治疗脂溢性脱发的关键靶点。

AKT1(丝、苏氨酸蛋白激酶)是 TOR 蛋白的负调控靶点,有研究表明 TOR 的抑制会引发自噬,可以通过间接或直接抑制 TOR 通路活性和诱导自噬来加速毛发再生^[30],因此增强丝、苏氨酸蛋白激酶的活性,可以缓解脂溢性脱发的症状。

TNF(肿瘤坏死因子),有研究表明雄激素升高会刺激毛囊细胞释放转化生长因子(TGF) β 1、TGF β 2,以及(Wnt 通路抑制因子)dickkopf 1(DKK-1)和白介素 6(IL-6),它们影响毛囊角质形成细胞,阻碍毛发的生长,同时发现,外切蛋白(EDA)是肿瘤坏死因子(TNF)家族成员,通过激活 caspase-3 诱导外根鞘细胞 ORS 和毛囊细胞凋亡,因此抑制肿瘤细胞坏死因子可能是治疗脂溢性脱发的关键靶点^[31]。

PPARG(过氧化物酶体增殖物激活受体),主要参与脂质代谢的调控,有研究表明长期的高脂饮食会引起肥胖,加速毛囊细胞产生过量的活性氧,并分泌炎症因子进而导致毛囊脂滴活化和过度消耗,从而引起脂溢性脱发患者毛发油腻,毛囊微小化,最终导致脂溢性脱发患者头发的脱落,因此认为 PPARG

可能参与调节脂质代谢途径来改善脂溢性脱发^[3]。

3.3 二至丸治疗脂溢性脱发的机制分析

对 44 个靶点进行 GO 和 KEGG 分析,他们可能共同参与了 AKT 蛋白合成激酶通路,MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)信号蛋白激酶通路,JAK-STAT 信号通路,FOXO 信号通路,络氨酸激酶抑制通路,黑素瘤通路,HIF-1 缺氧诱导因子通路等多种相关疾病通路上。

在 GO-CC 功能富集分析中显示,这些共有靶点可能调控了细胞膜物质进出、细胞核蛋白转录以及细胞质中生物物质的代谢,GO-BP 中显示这些共有靶点调控细胞群的增殖,调控蛋白质磷酸化,调控上皮细胞的增殖,调控白细胞的增殖,调控细胞脂质代谢以及细胞凋亡等生物功能,GO-MF 中显示这些共有靶点所具有的分子功能主要调控细胞因子活性,调控蛋白激酶活性,调控 RNA 聚合酶,调控表皮生长因子受体,以及趋化因子等生物进程。

MAPK(丝裂原活化蛋白激酶)信号蛋白激酶通路,有研究报道 MAPK 蛋白能显著增加音猬因子(SHH)蛋白信号的表达^[32],SHH 信号蛋白可以通过促进毛囊由休止期转化到生长期,同时促进毛囊细胞分泌表皮生长因子(EGF),进而促进毛囊细胞的增殖^[33]。有研究表明在毛囊细胞生长期中 SHH 表达升高^[34],因此激活丝裂原活化蛋白激酶的活性,可能是治疗脂溢性脱发的关键。

FOX1(叉头盒蛋白)可以抑制雄激素受体的活化^[35],Crabtree 等^[36]认为毛囊细胞中雄激素受体的高表达可能以雄激素依赖的方式干扰毛发生长,5- α 双氢睾酮与雄激素受体结合能力较高,而雄激素通过毛囊细胞内的细胞内雄激素受体起作用,体内高水平的双氢睾酮会导致头发的掉落。因此激活 FOX1 信号通路有利于脂溢性脱发情况的缓解。

有研究报道 HIF-1(缺氧诱导因子)可以诱导人乳头瘤细胞的增殖,激活毛囊细胞中 VEGF^[37-38];有研究表明,脂溢性脱发患者血液粘稠度高,局部血液流动过缓,血瘀等因素可能是导致脂溢性脱发的一个重要原因^[39]。因此血管内皮生长因子的升高有利于增加毛发局部血流,促进毛发的生长^[40]。HIF-1 缺氧诱导因子的参与,可能成为治疗脂溢性脱发的重要途径。

JAK-STAT 信号,Etienne 等^[41]认为在皮下细胞中存在一种信号——JAK-STAT,JAK-STAT 信号在静息状态下维持毛囊干细胞(HFSCs)是必需的。作者通过实验表明 IL-6 家族细胞因子 Oncostatin M(OSM)通过 JAK-STAT 信号负调控头发生长,维持 HFSCs 的静止,它会对毛囊的正常代谢造成阻碍,从

而影响着头发的正常生理代谢功能,最后导致脱发。

综上,本研究采用网络药理学和分子对接技术,探讨了二至丸可能通过山奈酚、二氢槲皮素、乙酸熊果酸、红车轴草素、3'-O-甲基香豌豆苷元、紫柳素、木犀草素、槲皮素等关键成分,作用于ATK1、TNF、IL6、PPARG、ERBB2、ESR1靶点,通过减轻毛囊炎症反应,降低毛囊细胞氧化应激、促进毛囊局部血流等机制发挥治疗脂溢性脱发的作用,从而缓解脂溢性脱发的症状。

参考文献:

- [1] 赵玲.“植发:2.5亿人的头等大事”[N].北京科技报,2022-03-07(020).
- [2] MIRELA M, IOANA P, MARIA P, et al. Finasteride side effects and post-finasteride syndrome in male androgenic alopecia [J]. *Journal of Mind and Medical Sciences*, 2015, 2(2): 142-149.
- [3] HIRONOBU M, YASUAK M, MARINA G, et al. Obesity accelerates hair thinning by stem cell-centric converging mechanisms [J]. *Nature*, 2021, 3(6), 431-438.
- [4] 高坤平,杨文信.杨文信教授从肝肾论治脂溢性脱发经验[J].*云南中医中药杂志*,2016,37(1):10-12.
- [5] 吴旻,王来贤.扶寿精方[M].北京:中医古籍出版社,1986:23-27.
- [6] 黄少杰,陈海霞,牟菲,等.二至丸化学成分及药理作用研究进展[J].*中华中医药杂志*,2021,36(11):6617-6619.
- [7] 黄仁坤,卢玢桦,张衍,等.中西医结合治疗青年雄激素源性脱发湿热熏蒸证疗效观察[J].*广西中医药*,2022,45(2):32-34.
- [8] 伍迪,李杰,林燕,等.叶建州教授辨证结合辨治雄激素脱发的经验[J].*云南中医中药杂志*,2022,43(3):6-8.
- [9] 谭素芳,钟昕,周琦,等.防脱发液联合祛脂生发汤治疗女性型脱发临床观察[J].*亚太传统医药*,2022,18(2):125-128.
- [10] 莫俊熙,黄咏菁,禰国维,等.国医大师禰国维运用二至丸治疗皮肤病经验摘要[J].*中国医药导报*,2021,18(8):141-144.
- [11] 牛蔚露,张社峰,崔伟锋.基于数据挖掘名老中医治疗不同类型脱发的用药规律分析[J].*河南中医*,2019,39(11):1719-1722.
- [12] RU J L, LI P, WANG J A, et al. TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *Journal of Cheminformatics*, 2014, 6(1): 13.
- [13] SAFRAN M, SOLOMON I, SHMUELI O, et al. GeneCards™ 2002: towards a complete, object-oriented, human gene compendium [J]. *Bioinformatics*, 2002, 18(11): 1542-1543.
- [14] MARILY S, IRINA S, ORIT S, et al. GeneCards 2002: towards a complete, object-oriented, human gene compendium [J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2002, 18(11), 180-187.
- [15] JANET P, JOSEP S, FERRAN S, et al. The disGeNET cytoscape app: exploring and visualizing disease genomics-data [J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2021, 19(8), 326-329.
- [16] VIVIAN L, CRAIG K, YANNICK D, et al. DrugBank 4.0: shedding new light on drug metabolism [J]. *Nucleic acids research*, 2014, 42(6), 341-349.
- [17] ACHARYA M, PANDEY P. Disease-phenotype deconvolution in genetic eye diseases using online mendelian inheritance in Man (OMIM) database [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2015, 56(7), 230-238.
- [18] YING Z, YINTAO Z, XICHEN L, et al. Therapeutic target database update 2022: facilitating drug discovery with enriched comparative data of targeted agents [J]. *Nucleic acids research*, 2021, 50(11), 248-252.
- [19] ZOETE V, DAINA A, BOVIGNY C, et al. SwissSimilarity: a web tool for low to ultra high throughput ligand-based virtual screening [J]. *J Chem Inf Model*, 2016, 56: 1399-1404.
- [20] TLC, MAX F, FARZANA K, et al. Cytoscape Web: an interactive web-based network browser [J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2010, 26(18), 431-437.
- [21] ZHOU Y Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 1523.
- [22] LI Q, CHENG T, WANG Y, et al. PubChem as a public resource for drug discovery [J]. *Drug Discovery Today*, 2010, 15(23), 415-420.
- [23] PJR, FEI L, NMG, et al. The PDB-REDO server for macromolecular structure model optimization [J]. *IUCrJ*, 2014, 1(6), 398-406.
- [24] 杨颖,王芸芸,蒋琦辰.槲皮素药理作用的研究进展[J].*特种经济动植物*,2020,23(5):24-28.
- [25] 王琪,李坤伟,周长征.木犀草素的药理作用及制剂研究进展[J].*北京联合大学学报*,2022,36(1):59-63.
- [26] 黄海艳,杜娟,张杰,等.紫柳素通过AMPK通路促进正常人黑素细胞黑素合成的机制研究[J].*中国中西医结合皮肤性病学杂志*,2020,19(5):406-409.
- [27] 张晓霞,周延萌,张小敏,等.红车轴草异黄酮药理作用的研究进展[J].*中国医药指南*,2012,10(11):102-104.
- [28] 李美睢,卢婷,赵建云,等.齐墩果酸和熊果酸的测定方法与药理作用研究进展[J].*青海草业*,2020,29(4):58-63.
- [29] 雷晓青,陈鳌,刘毅,等.山奈酚药理作用的研究进展[J].*微量元素与健康研究*,2017,34(2):61-62.
- [30] RUSSELL R C, TIAN Y, YUAN H X, et al. ULK1 induces autophagy by phosphorylating Beclin-1 and activating VPS₃₄ lipid kinase [J]. *Nature Cell Biology*, 2013,

- 15(7): 741–750.
- [31] HEE K M, CHUL K J, KYU K M. Ectodysplasin – A2 induces apoptosis in cultured human hair follicle cells and promotes regression of hair follicles in mice[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2019, 520(2), 145–160.
- [32] HASLAM I S, ZHOU G, XIE G, et al. Inhibition of Shh Signaling through MAPK Activation Controls Chemotherapy – Induced Alopecia[J]. *Journal of Investigative Dermatology*, 2020, 141(9), 468–472.
- [33] SHENG L, JING C, FENG C, et al. Liposomal honokiol promotes hair growth via activating Wnt3a/ β – catenin signaling pathway and down regulating TGF – β 1 in C57BL/6N mice[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2021, 14(1), 258–263.
- [34] STENN K S, PAUS R. Controls of hair follicle cycling [J]. *Physiological reviews*, 2001, 81(1): 449–494.
- [35] LIU X, TANG H Y, LUO Z C. Insulin resistance and skin diseases [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2020, 42(2): 247–250.
- [36] CRABTREE J S, KILBOURNE E J, PEANO B J, et al. A mouse model of androgenetic alopecia [J]. *Endocrinology*, 2010, 151(5): 2373–2380.
- [37] IWABUCHI T, OGIURA K, TAMBA K, et al. Cepharanthine induces the proliferation of human dermal papilla cells and stimulates vascular endothelial growth factor expression through increased intracellular calcium mobilization and hypoxia – inducible factor activation [J]. *Clinical and Experimental Dermatology*, 2021, 46(4): 694–703.
- [38] ANDJELKOV K, EREMIN I I, KORAC A. Different levels of EGF, VEGF, IL – 6, MCP – 1, MCP – 3, IP – 10, Eotaxin and MIP – 1 α in the adipose – derived stem cell secretome in androgenetic alopecia [J]. *Experimental Dermatology*, 2022, 31(6): 936–942.
- [39] 周晴, 魏跃钢, 胡源, 等. 雄激素源性脱发与血液流变学变化的关系探讨[J]. *中国中西医结合皮肤性病学期杂志*, 2006(3): 147–148.
- [40] 高宇航, 林雪妹, 吴依娜, 等. 干姜五指方对脂溢性脱发小鼠毛发生长的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(10): 1228–1232.
- [41] WANG E C E, DAI Z, FERRANTE A W, et al. A subset of TREM2⁺ dermal macrophages secretes oncostatin m to maintain hair follicle stem cell quiescence and inhibit hair growth [J]. *Cell Stem Cell*, 2019, 24(4): 654–669.

Investigating the mechanism of Erzhi pill for the treatment of seborrheic alopecia based on network pharmacology and molecular docking

PENG Tao¹, LI Yan-wei², LI Dong-na², GUO Hong¹

(1. State Key Laboratory of Component Chinese Medicines, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Haihe Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

Abstract: This study aims to explore the mechanism of action of Erzhi pill in the treatment of seborrheic alopecia based on network pharmacology and molecular docking. The drug composition information of Erzhi pill was searched and collected through TCMSMP database, the disease targets related to seborrheic alopecia were collected through Disgenet, TTD, OMIM, Genecards, Drugbank and other databases, the active drug composition targets were predicted using Swiss Target Prediction, and the active drug composition and The PPI network map was constructed using String database and Cytoscape 3.7.2 software, GO bioannotation and KEGG pathway enrichment analysis were performed by Metascape database and visualized by Cytoscape 3.7.2 to construct the target and pathway network map. The results are as follows: fifteen active ingredients and 170 targets were collected and screened for Erzhi pill, 533 targets related to seborrheic alopecia and 44 common targets, among which AKT1, VEGFA, IL6, TNF, PPARG, ERBB2, ESR1 had the most significant interactions, which were involved in, cancer pathway, lipid and atherosclerosis, AGE-RAGE signalling pathway in diabetic complications, PI3K-Akt signalling pathway, IL-17 signalling pathway, prostate cancer, bladder cancer, tumour necrosis factor signalling pathway, proteoglycan in cancer and 147 other signalling pathways. Er Zhi Wan can treat seborrheic alopecia by inhibiting inflammation in vivo, improving the oxidative stress response of hair follicle cells, regulating lipids and nourishing the liver and kidney, and promoting local vascularization of the scalp, reflecting the multi-component, multi-target and multi-pathway pharmacological characteristics of Er Zhi Wan in the treatment of seborrheic alopecia.

Key words: Erzhi pill; network pharmacology; molecular docking; seborrheic alopecia

(责任编辑 王琳)