

DOI: 10.14188/j.ajsh.20250721002

基于网络药理学探讨柯孜木克颗粒治疗慢性细菌性前列腺炎作用机制

努尔巴合提·候瓦提, 胡梦颖, 叶力夏提·达那别克, 程波, 徐磊, 哈木拉提·哈斯木*

(新疆维吾尔自治区药物研究院, 新疆 乌鲁木齐 830034)

摘要: 基于网络药理学和动物实验, 探讨中药民族药柯孜木克(Kezmekh, KZMK)颗粒对慢性细菌性前列腺炎(chronic bacterial prostatitis, CBP)的防治作用。运用网络药理学方法预测KZMK颗粒作用于CBP的核心靶点及信号通路, 共筛选出181个潜在作用靶点, 主要涉及4条关键信号通路, 通过KEGG富集分析确定磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B, PI3K-AKT)信号通路与CBP的关联最为显著。为验证预测结果, 成功建立了大肠杆菌(*Escherichia coli*)诱导的大鼠CBP模型, 通过苏木精-伊红染色(hematoxylin and eosin staining, HE)观察发现, KZMK能显著改善前列腺组织病理形态, 减少炎症细胞浸润; 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)显示, KZMK可显著降低血清中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的水平($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。蛋白质免疫印迹(Western blot)分析证实, KZMK能显著下调前列腺组织中PI3K、AKT以及TNF- α 、IL-1 β 和IL-6蛋白的表达($P < 0.001$ 或 $P < 0.01$)。综合研究结果表明, KZMK可能通过抑制促炎因子IL-6和TNF- α 的释放, 调控PI3K-AKT信号通路关键蛋白的磷酸化表达, 从而减轻前列腺组织炎症反应, 发挥对CBP的治疗作用。

关键词: 柯孜木克颗粒; 慢性细菌性前列腺炎; 网络药理学; PI3K-AKT信号通路

中图分类号: R282

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2025)04-0379-10

Mechanism of Kezmekh granules in the treatment of chronic bacterial prostatitis based on network pharmacology

Nurbahti·Huwati, Hu Mengying, Yelishat·Danabek, Cheng Bo, Xu Lei, Hamurat·Hasmu*

(Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Pharmacology, Urumqi 830034, Xinjiang, China)

Abstract: Based on network pharmacology and animal experiments, this study investigated the preventive and therapeutic effects of Kezmekh (KZMK) granules, a traditional Chinese medicine and ethnic medicine, on chronic bacterial prostatitis (CBP). Network pharmacology methods were used to predict the core targets and signaling pathways of KZMK granules acting on CBP, and a total of 181 potential targets were screened, primarily involving four key signaling pathways, with KEGG enrichment analysis confirming the phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B (PI3K-AKT) signaling pathway as the most significantly associated with CBP. To validate these predictions, the study successfully established a rat CBP model induced by *Escherichia coli*. Hematoxylin and eosin (HE) staining revealed that KZMK significantly improved prostate tissue histopathology and reduced inflammatory cell infiltration. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) demonstrated that KZMK markedly decreased serum levels of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Western blot analysis confirmed that KZMK significantly downregulated

收稿日期: 2025-07-21 修回日期: 2025-08-01 接受日期: 2025-08-02

作者简介: 努尔巴合提·候瓦提(1985-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事新药药理学研究, E-mail: 554623209@qq.com

* 通讯联系人: 哈木拉提·哈斯木(1975-), 男, 硕士, 副研究员, 主要从事新药药理学及安全评价研究, E-mail: Hamulati@sina.com

基金项目: 自治区公益性科研院所基本科研业务费项目(KY2021099); 自治区卫生健康青年医学科技人才专项科研项目(WJWY-202224)

引用格式: 努尔巴合提·候瓦提, 胡梦颖, 叶力夏提·达那别克, 等. 基于网络药理学探讨柯孜木克颗粒治疗慢性细菌性前列腺炎作用机制[J]. 生物资源, 2025, 47(4): 379-388.

Nurbahti·Huwati, Hu Mengying, Yelishat·Danabek, et al. Mechanism of Kezmekh granules in the treatment of chronic bacterial prostatitis based on network pharmacology [J]. Biotic Resources, 2025, 47(4): 379-388.

the expression of PI3K, AKT, as well as TNF- α , IL-1 β , and IL-6 proteins in prostate tissues ($P < 0.001$ or $P < 0.01$). In summary, these findings suggest that KZMK may exert its therapeutic effects on CBP by inhibiting the release of pro-inflammatory factors IL-6 and TNF- α , regulating the phosphorylation of key proteins in the PI3K-AKT signaling pathway, thereby alleviating inflammatory responses in prostate tissues.

Key words: Kezmekh granules; chronic bacterial prostatitis (CBP); network pharmacology; PI3K/AKT signaling pathway

0 引言

慢性细菌性前列腺炎(chronic bacterial prostatitis, CBP)是由一种或多种病原菌持续感染所引起的慢性炎症,其发病率高、病程迁延、复发频繁,呈年轻化趋势。据统计,泌尿外科门诊患本病的患者中,20~45岁男性占35%~40%^[1]。其临床症状主要表现为尿频、尿急、尿潴留、尿痛、阴囊潮湿疼痛、会阴区坠胀不适等,严重者可致阳痿或早泄^[2]。在耐药菌流行的时代,耐药性的增强和抗生素的不良反应限制了西药选择。中医防治前列腺炎的药物有前列舒通胶囊、宁泌泰胶囊、前列欣胶囊等^[3],中药制剂凭借多成分、多途径、多靶点的优势,有效干预病理的多个环节,协同发挥药效^[4]。因此,中成药防治CBP成为一种较好的选择。

目前,国内外主要根据临床症状、前列腺液检查、尿液培养及影像学检查进行诊断。近年来,分子生物学技术的应用提高了患者病原体检测的准确性。抗生素治疗是主要手段,但由于前列腺上皮的类脂质膜屏障作用,药物渗透性较差,治疗效果不理想。国内外学者正在探索中西医结合治疗、物理治疗及免疫调节疗法等新方法,CBP炎症微环境及发病机制的进一步研究是预防和治疗慢性细菌性前列腺炎的理论关键。

中医药在治疗慢性疾病方面具有独特的理论体系和实践经验。柯孜木克(Kezmekh, KZMK)颗粒是新疆阿勒泰地区中医医院(阿勒泰地区哈萨克医学院)临床上应用多年的院内制剂,已申请专利^[5]。其组方由黑果越橘、沙生蜡菊、木贼等药材组成,可用于治疗急慢性前列腺炎、尿道炎等泌尿系炎症,是利用中药民族药哈萨克医传统药材资源开发的新药,制备方法简单,抗炎作用强且无毒性。处方中三味药材均在《医药志》等经典古籍中记载,KZMK颗粒具有清解利尿、调理体液、通利脉络之功效^[6]。

本研究在前期研究工作中发现KZMK颗粒具有较强的抑菌及增强机体免疫功能的作用^[7]。然而,由于中药成分复杂,作用机制多靶点且相互关联,其确切的作用机制尚不明确。为进一步探索KZMK颗粒治疗慢性细菌性前列腺炎的作用及作

用机制,本文采用网络药理的方法,从“药物-成分-靶点-通路”互相关系等方面预测KZMK颗粒与疾病相互作用的关键蛋白和信号通路,并通过大肠杆菌(*Escherichia coli*)诱导大鼠CBP模型进行初步验证,为该药防治CBP提供理论依据。

1 材料

1.1 药材及试剂

黑果越橘和沙生蜡菊由阿勒泰地区哈萨克医学院提供(批号:202207、202208);木贼购自新疆维草集药材有限公司(批号:190901)。上述药材均由新疆维吾尔自治区药物研究院何江研究员鉴定。

大肠杆菌由新疆维吾尔自治区疾控中心提供(批号:20201117);双石通淋胶囊来源于陕西摩美得气血和制药有限公司(批号:20220104);大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(批号:22B139)、大鼠白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6) ELISA试剂盒(批号:E77S8 BSLTM);兔抗TNF- α 、IL-1 β 、IL-6抗体均购自美国Abcam(批号:ab215188、ab254360、ab6672);兔抗p-NF-KB、PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、 β -actin抗体均购自美国Cell Signaling Technology(批号:3039、17366、4691、4060、3700)。

1.2 实验动物

健康无特定病原体(specific pathogen free, SPF)雄性SD(Sprague-Dawley)大鼠,体质量(100 \pm 20)g,购自新疆医科大学动物实验中心,实验动物生产许可证:SCXK(新)2018-0002。大鼠饲养于新疆维吾尔自治区药物研究院动物房,温度21~23 $^{\circ}$ C,相对湿度40%~60%,每12h规律地明暗交替照明,自由进食和饮水。动物实验经新疆维吾尔自治区药物研究院实验动物伦理委员会批准,伦理号为XJIMM-20220407。

1.3 实验仪器

SpectraMax M2型多功能酶标仪(美谷分子仪器上海有限公司);YP5002型电子计数天平(上海佑科仪器仪表有限公司);DHG-9162型电热恒温鼓风

干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);CJ-2F型医用净化工作台(上海沪净医疗器械有限公司);优普特UPT-11-10T实验室超纯水仪(优普超纯科技有限公司);DT-1002A型电子天平(梅特勒托利多有限公司);H1650RB型台式高速冷冻离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);电泳仪(美国伯乐);发光仪(美国GE healthcare)。

2 研究方法

2.1 网络药理学

1)KZMK颗粒化学成分收集。在TCMSP数据库中以“木贼”为关键词检索其化学成分,在化学专业数据库以“沙生蜡菊”和“黑果越橘”为关键词检索其化学成分,在PubChem数据库对所收集化学成分的分子结构进行确认,建立KZMK颗粒化学成分数据库。

2)KZMK颗粒化学成分相关靶点筛选。2024年12月,在TCMSP v2.3数据库中,针对收集的KZMK颗粒化学成分,以“口服生物利用度 $OB \geq 30\%$ ”和“类药性 $DL \geq 0.18$ ”为筛选条件,下载其对应的所有相关靶点,建立KZMK颗粒化学成分潜在靶点数据库。

3)前列腺炎潜在靶点筛选。在GeneCards、DrugBank、HERB数据库中以“prostatitis”为关键词检索前列腺炎相关潜在疾病靶点,对各数据库中所收集的基因靶点进行合并去重,得到前列腺炎潜在疾病靶点数据库。

4)药材-化学成分-靶点网络构建。基于Cytoscape软件,以KZMK颗粒各药材、各药材筛选后对应的化学成分以及KZMK颗粒与前列腺炎共有靶点为节点,两者之间作用关系用边表示,构建其药材-化学成分-靶点网络。

5)蛋白质交互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建。将KZMK颗粒与前列腺炎共有靶点导入STRING数据库,置信度设置为0.900,并隐藏游离的节点,构建KZMK颗粒治疗前列腺炎的靶蛋白相互作用PPI网络。导入Cytoscape软件进行图形可视化,利用CytoNCA插件进行拓扑分析,构建KZMK颗粒治疗前列腺炎靶点关键子网络。

6)GO(Gene Ontology)与KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)富集分析。应用R软件中的Bioconductor数据包对KZMK颗粒与前列腺炎共有基因靶点进行GO与KEGG富集分析($P < 0.05$),筛选排名靠前的数据进行图形可视化。

2.2 动物实验验证

1)KZMK颗粒药物制备。取640 g沙生蜡菊和320 g木贼混合,70%乙醇回流提取2次,每次1 h,过滤后合并滤液备用;将192.5 g黑果越橘用10倍量水煎煮、过滤,合并滤液,与上述醇提浸膏合并,真空干燥、粉碎过100目筛,得KZMK浸膏粉,出膏率为11.6%。

2)大肠杆菌制备。将存放于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱的大肠杆菌溶解,常温吸取 $100\text{ }\mu\text{L}$ 于培养皿中进行划线, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (12~16 h)过夜培养,将单菌落置于15 mL离心管中,加入8 mL LB培养液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (12~16 h)震荡培养。将培养后的菌液进行离心($5\ 000\text{ r/min}$),无菌水稀释,用比浊仪检测到其浓度为 $3.5 \times 10^8\text{ CFU/mL}$ 。

3)动物造模及给药。将60只SD大鼠按体重随机分为假手术组(记为Sham组, $n=10$)和手术组($n=50$)。对实验动物适应性饲养一周后,参照中药药理研究方法学^[8]方法,用水合氯醛麻醉手术组大鼠后,进行下腹部剃毛、消毒备皮处理,沿正中开约2 cm的纵切口,暴露前列腺,用1 mL无菌注射器将配置好的大肠杆菌($3.5 \times 10^8\text{ CFU/mL}$)注射到前列腺左右腹侧0.25 mL。采用同样方法对假手术组大鼠注射同体积的生理盐水,上述手术操作均在无菌条件下进行。术后3天,将手术组随机分为模型组(记为Mod组)、双石通淋胶囊组(记为YD组,剂量 0.63 g/kg ,相当于人用剂量 0.1 g/kg)、KZMK-L组(剂量 0.13 g/kg)、KZMK-M组(剂量 0.25 g/kg ,相当于生药 20.7 g/kg)、KZMK-H组(剂量 0.50 g/kg),每组10只。各组大鼠ig相应药物($1\text{ mL}/100\text{ g}$),假手术组和模型组ig等体积的蒸馏水,1次/天,连续给药14天。

4)样本采集。大鼠灌胃两周结束后,腹腔注射麻醉大鼠,腹主动脉取各组大鼠血清, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $3\ 500\text{ r/min}$ 条件下离心后取上清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存备用。取前列腺组织,用生理盐水漂洗后,从中央线部位切开,左侧腹叶使用4%多聚甲醛固定,右侧腹叶放入冻存管中, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 储存备用。

5)前列腺组织病理变化。对于使用4%多聚甲醛固定好的前列腺组织,通过不同梯度浓度的酒精进行脱水、包埋、切片、用苏木精-伊红染色,使用光学显微镜进行病理观察。

6)大鼠血清炎症因子含量变化。按照相应ELISA试剂盒中提供的说明书测定TNF- α 、IL-6的含量。

7)采用蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测

前列腺组织蛋白表达。将大鼠前列腺置于RIPA (radio immunoprecipitation assay)裂解液中,匀浆后低温离心,取上清液;用BCA(bicinchoninic acid assay)法测定蛋白浓度;十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)电泳分离蛋白后,120V转膜100 min,将PVDF膜(polyvinylidene fluoride membrane)置于5%脱脂奶粉中,封闭1 h。TBST洗膜3次,一抗TLR4、MyD88、NF- κ B p65、NF- κ B p65、 β -actin(稀释倍数均为1:1 000)4℃孵育过夜,二抗(1:2 500)室温孵育1 h,使用ECL化学发光溶液进行显影。用ImageJ软件处理统计图像条带灰度值。

2.3 统计方法

使用SPSS 24.0软件进行数据处理,使用Graphpad Prism 8.0.1作图,数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间数据采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学

3.1.1 KZMK颗粒化学成分靶点收集

针对木贼,共收集到84个化学成分,筛选后9个化学成分;针对沙生蜡菊,收集到196个化学成分,筛选后7个化学成分;针对黑果越橘,收集到130个化学成分,筛选后8个化学成分。

3.1.2 KZMK颗粒与CBP疾病作用靶点筛选

在KZMK颗粒化学成分潜在靶点数据库中,共收集到木贼384个靶点,沙生蜡菊339个靶点,黑果越橘334个靶点,去掉重复靶点后,得到213个基因靶点。在GeneCards, DrugBank和HERB数据库潜在疾病靶点数据库中,分别收集到慢性细菌性前列腺炎6 872、44、75个靶点,去掉重复靶点后,共计得到6 904个基因靶点。对化学成分潜在靶点数据库与前列腺炎疾病潜在靶点数据库基因靶点取交集,得到KZMK颗粒与CBP疾病的181个共有基因靶点,见图1。

3.1.3 药物-活性成分-靶点网络分析

通过Cytoscape 3.7.1软件构建药物-活性成分-共有靶点网络,见图2,总共包含234个节点(3个药材节点、18个化学成分节点、213个靶点节点)和946条边,利用Network Analyzer进行分析,网络中度值为该节点相关联边的条数,度值大小与活性成分关键程度呈正相关。排名前3位的成分分别为querce-

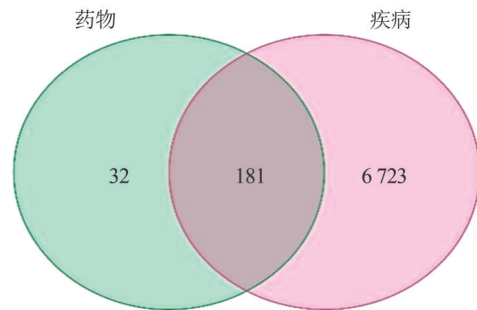


图1 KZMK颗粒成分-前列腺炎靶点 Venn图
Figure 1 Venn diagram of KZMK granules as targets for the treatment of prostatitis

tin, kaempferol, luteolin, 这些成分可能是KZMK颗粒治疗CBP的关键有效活性成分。

3.1.4 PPI蛋白互作网络

将交集靶点导入STRING数据库,得到靶点蛋白PPI网络,见图3。对PPI网络汇总的靶点进行拓扑分析,根据degree值筛选出重要的关键节点,得到degree值靠前的核心网络靶点15个,分别为MAPK3、MYC、MAPK14、CCND1、MAPK1、AKT1、ESR1、CDKN1A、MAPK8、JUN、RELA、FOS、EGFR、TP53、RB1,见图4。上述靶点可能是KZMK颗粒治疗CBP的核心靶点。

3.1.5 GO富集分析及KEGG通路富集

GO分析结果显示,生物学过程(biological process, BP)主要涉及条目是对氧化应激的反应、对脂多糖的反应等,细胞组分(cellular component, CC)主要富集在膜筏、膜微区和膜区域等条目。分子功能(molecular function, MF)主要包含DNA结合转录因子结合、RNA聚合酶II特异性DNA结合转录因子结合和泛素样蛋白连接酶结合等,见图5。KEGG通路富集分析主要涉及PI3K-AKT信号通路、肿瘤坏死因子(TNF)信号通路和IL-17信号通路等,提示KZMK颗粒有可能通过上述信号通路治疗CBP,见图6。

3.2 动物实验验证

3.2.1 KZMK颗粒对CBP大鼠前列腺组织病理变化的影响

Sham组大鼠前列腺组织结构正常,腺腔大小基本一致,无明显扩张,腺上皮细胞排布紧密;Mod组腺上皮细胞形状不规则,腺体组织结构紊乱,间质、腺腔内可见大量炎症细胞浸润;与Mod组相比, KZMK-H组、YD组病理组织得到改善,腺体组织结构恢复有序,炎症细胞浸润减轻, KZMK-L组病理改变不明显,提示KZMK颗粒对大鼠前列腺组织具有一定的保护作用,见图7和表1。

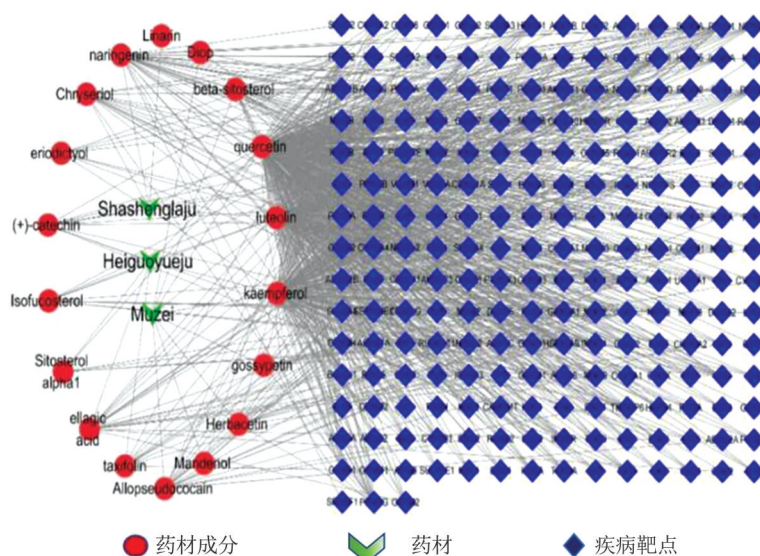


图2 药物-活性成分-靶点网络图

Figure 2 Network of drug, active ingredients and targets

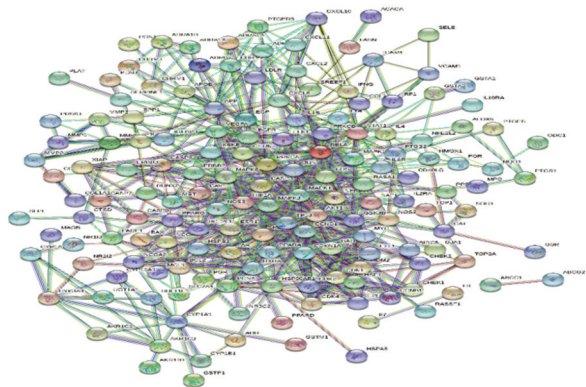


图3 前列腺炎潜在靶点的PPI网络

Figure 3 PPI network of potential targets for prostatitis

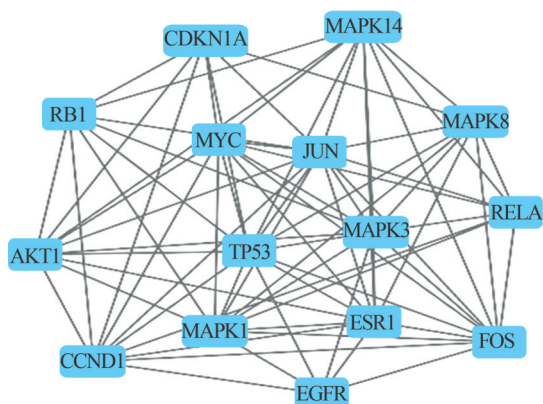


图4 KZMK颗粒治疗前列腺炎关键子网络

Figure 4 Key subnetworks of KZMK granules in the treatment of prostatitis

3.2.2 KZMK颗粒对CBP大鼠血清炎症因子水平的影响

与Sham组相比,Mod组大鼠血清TNF- α 与IL-

6含量明显升高($P < 0.01$);与Mod组相比,KZMK-L组、KZMK-M组、KZMK-H组与YD组血清中TNF- α 与IL-6含量明显降低($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$),提示KZMK颗粒能减轻CBP大鼠炎症反应,见表2。

3.2.3 KZMK颗粒对组织中蛋白表达量的影响

与Sham组相比,Mod组大鼠前列腺组织p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-NF- κ B/NF- κ B蛋白表达明显升高($P < 0.001$ 、 $P < 0.05$);与Mod组相比,KZMK-H组、KZMK-L组大鼠前列腺组织p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-NF- κ B/NF- κ B蛋白表达明显降低($P < 0.001$ 、 $P < 0.01$),见图8和表3。

3.2.4 KZMK颗粒对前列腺组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等蛋白表达的影响

与Sham组相比,Mod组大鼠前列腺组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6蛋白表达明显升高($P < 0.001$);与Mod组相比,KZMK-H组、KZMK-L组大鼠前列腺组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6蛋白表达均明显降低($P < 0.001$),见图8和表4。

4 讨论

慢性细菌性前列腺炎是泌尿男科前列腺炎的一种常见类型,主要由大肠杆菌、克雷伯菌、肠球菌等感染引起,主要有盆腔疼痛症状、下尿路症状、精神心理症状以及功能障碍症状。本病程迁延且易反复发作,严重影响患者身心健康^[9]。由于前列腺自身独特的组织结构、炎性刺激及耐药性等问题^[10-11],西药治疗方法效果有限^[12],一些物理疗法,

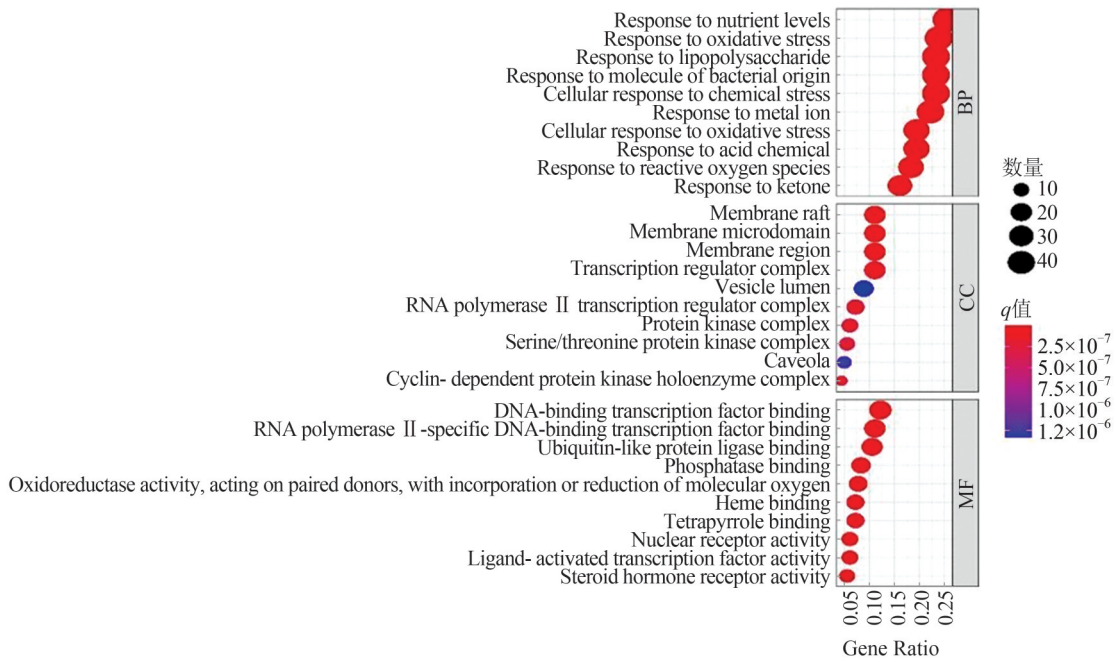


图5 KZMK颗粒GO富集分析中BP,CC和MF前10个条目

Figure 5 Top 10 GO terms (BP, CC, MF) of KZMU granules in GO enrichment analysis

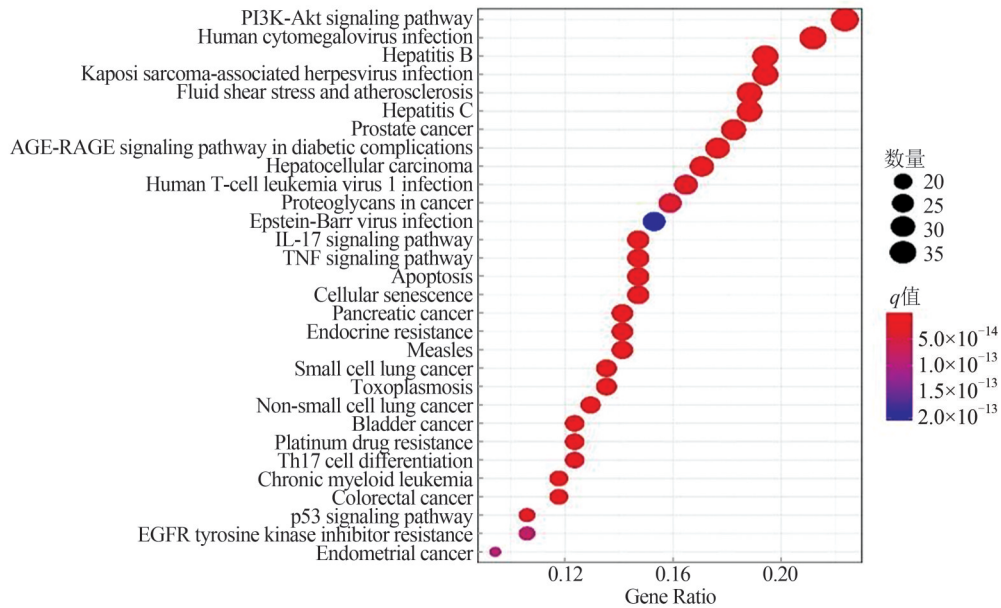


图6 KZMK颗粒KEGG富集分析前30条通路

Figure 6 Top 30 pathways of KZMK granules in KEGG enrichment analysis

如磁疗、热疗等,也存在较多不足^[13]。中医药具有多靶点、多通路作用于疾病的特点,对于慢性前列腺炎的治疗具有一定优势^[14]。

KZMK颗粒具有清解利尿、调理体液、通利络脉之效。前期研究证实其具有较强的抑菌、抗炎作用^[15]。哈萨克医学长期临床实践积累了数百种单方和验方,用于前列腺炎的KZMK颗粒(由沙生蜡菊、木贼、黑果越橘组成)即是其中之一,处方是在哈萨克医学理论指导下,经过多年临床实践形成的验方,

已在阿勒泰地区中医医院(阿勒泰地区哈萨克医医院)使用多年,临床疗效显著,并获得院内制剂批准文号(ZJ20170191)。

因此,本研究基于网络药理学分析,通过TC-MPS数据库筛选出KZMK颗粒中3种药材的213个基因靶点,并对化学成分潜在靶点数据库与前列腺炎疾病潜在靶点数据库基因靶点取交集,得到degree值靠前的核心网络靶点15个。根据以上相关研究进展,结合本次网络预测,KZMK颗粒治疗前

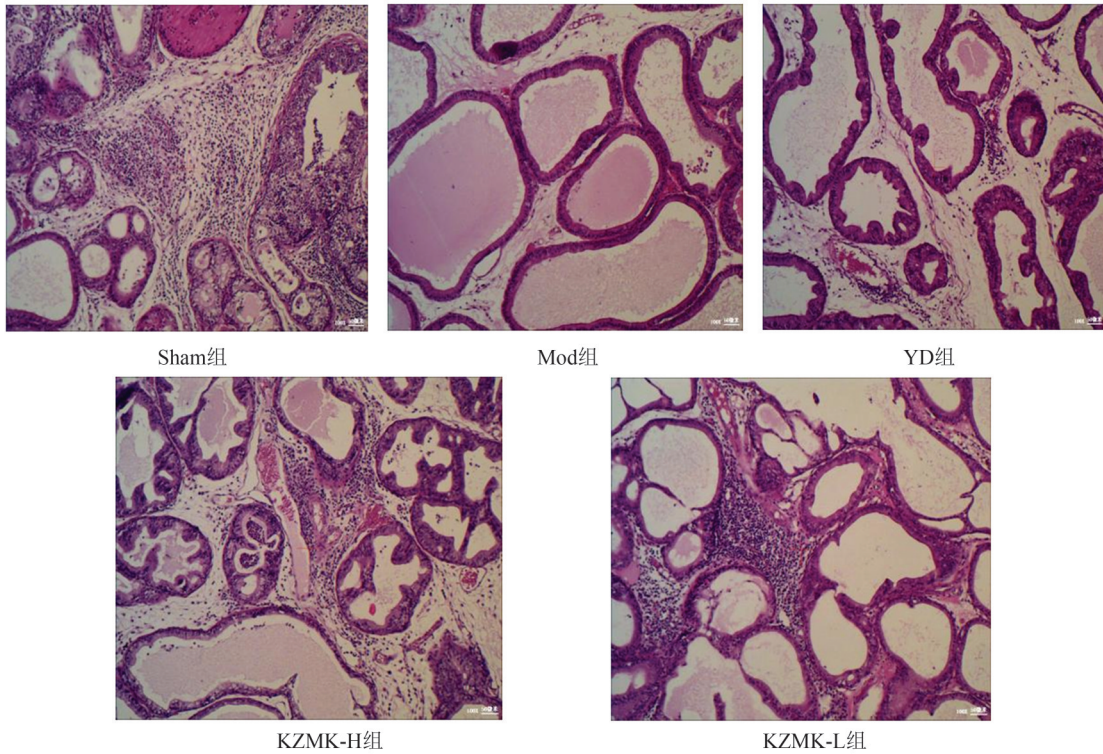


图7 各组大鼠前列腺组织病理学观察显微图

Figure 7 Microscopic observation of prostate tissue pathology in each group of rats

表1 慢性细菌性前列腺炎大鼠前列腺组织炎症分级

Table 1 Inflammatory grading of prostate tissues in rats with chronic bacterial prostatitis.

| 组别 | 动物数/只 | 前列腺炎分级 | | | |
|---------|-------|--------|---|----|-----|
| | | — | + | ++ | +++ |
| Sham组 | 6 | 6 | 0 | 0 | 0 |
| Mod组 | 6 | 0 | 2 | 2 | 2 |
| YD组 | 6 | 1 | 3 | 2 | 0 |
| KZMK-L组 | 6 | 0 | 2 | 2 | 2 |
| KZMK-H组 | 6 | 0 | 3 | 2 | 1 |

列腺炎的关键桥梁通路为PI3K-AKT通路。“药物-核心成分-核心靶点-CBP”交互网络中核心成分拓扑结果显示,度值排名前三的槲皮素、木犀草素和山

奈酚均属黄酮类,其在调节氧化应激、治疗炎症和感染性疾病中起着关键作用。槲皮素可通过降低CBP大鼠血清中炎症因子IL-6、TNF- α 水平,抑制PI3K-AKT磷酸化,阻止TNF- α 激活来改善炎症反应和减轻疼痛感觉。木犀草素可通过抗氧化应激、调节细胞因子及影响PI3K-AKT、NF- κ B等信号通路抑制炎症反应。

PI3K-AKT信号通路在细胞增殖、凋亡、迁移和炎症反应等生理病理过程中具有关键的调控作用,是调控炎症发生发展的关键信号,在炎症反应中处于激活状态,抑制其激活,可减轻炎症反应^[16]。PI3K-AKT是NF- κ B信号通路的上游,PI3K-

表2 KZMK颗粒对慢性细菌性前列腺炎大鼠血清中TNF- α 与IL-6的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of KZMK granules on TNF- α and IL-6 in rats with chronic bacterial prostatitis ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | TNF- α /(ng·L ⁻¹) | IL-6/(ng·mL ⁻¹) |
|---------|---------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Sham组 | | 376.63±77.76 | 100.41±17.39 |
| Mod组 | | 527.18±90.54## | 165.72±39.09## |
| YD组 | 0.63 | 357.83±101.42** | 119.19±36.55* |
| KZMK-L组 | 0.13 | 369.79±54.22** | 123.44±30.85* |
| KZMK-M组 | 0.25 | 374.04±90.96** | 112.11±28.08* |
| KZMK-H组 | 0.50 | 352.13±48.64** | 133.14±17.77* |

注:##表示与Sham组相比 $P < 0.01$; *和**分别表示与Mod组相比 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 。

Note: ## denotes $P < 0.01$ compared with Sham group; * and ** denote $P < 0.05$ and $P < 0.01$ compared with Mod group, respectively.

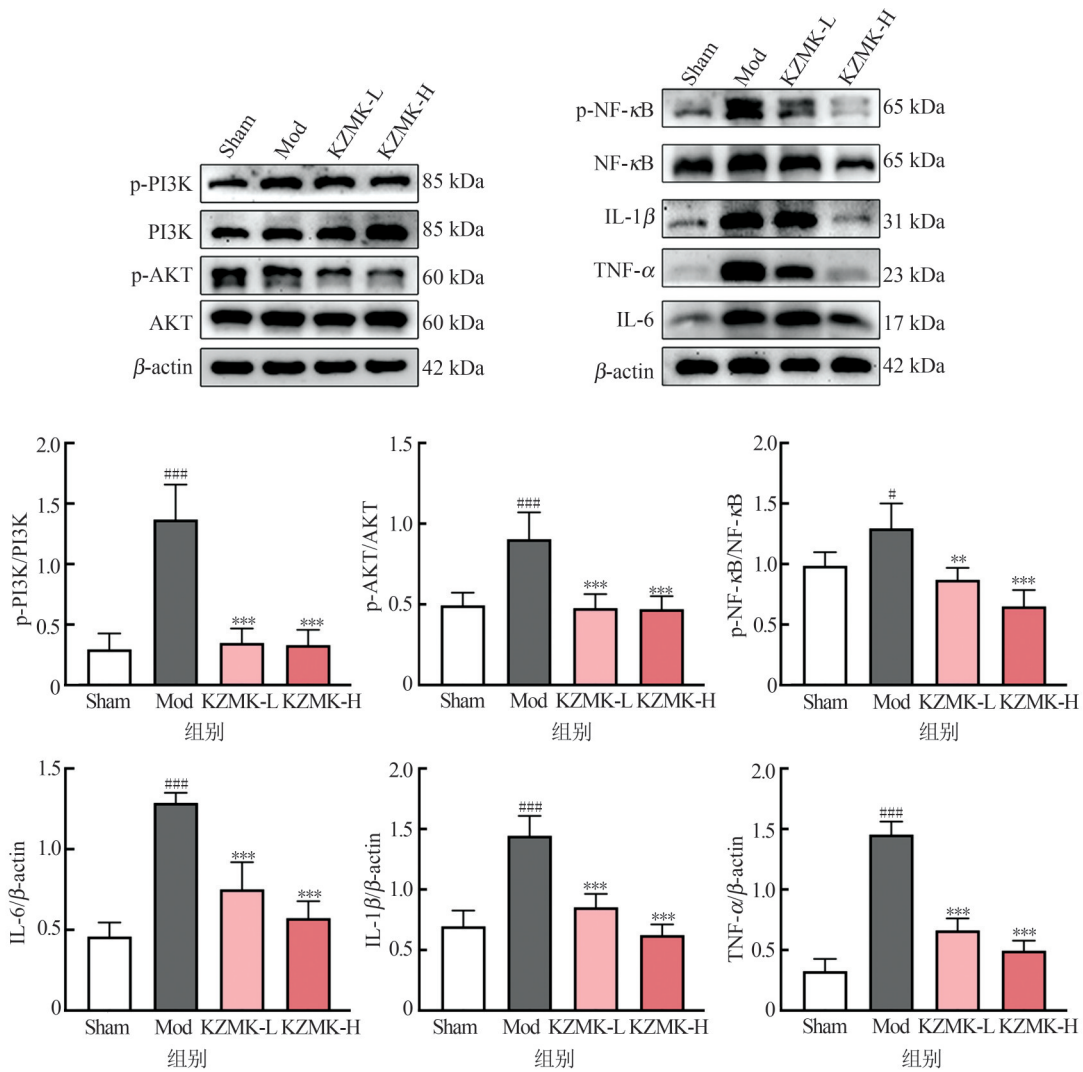


图8 KZMK颗粒对慢性细菌性前列腺炎大鼠前列腺组织关键蛋白表达的影响

Figure 8 Effect of KZMK granules on the expression of key proteins in the prostate tissue of rats with chronic bacterial prostatitis.

注:###和#分别表示与Sham组相比 $P < 0.001$ 、 $P < 0.05$;***和**分别表示与Mod组相比 $P < 0.001$ 、 $P < 0.01$ 。

Note: ### and # denote $P < 0.001$ and $P < 0.05$ compared with Sham group, respectively; *** and ** denote $P < 0.001$ and $P < 0.01$ compared with Mod group, respectively.

表3 KZMK颗粒对慢性细菌性前列腺炎大鼠前列腺组织关键蛋白(p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-NF-κB/NF-κB)表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of KZMK granules on expression of key protein (p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, p-NF-κB/NF-κB) in the prostate of rats with chronic bacterial prostatitis ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | p-PI3K/PI3K | p-AKT/AKT | p-NF-κB/NF-κB |
|---------|----------------|----------------|----------------|
| Sham组 | 0.294±0.132 | 0.494±0.079 | 0.986±0.112 |
| Mod组 | 1.368±0.288### | 0.904±0.167### | 1.294±0.207# |
| KZMK-L组 | 0.349±0.119*** | 0.476±0.087*** | 0.870±0.099** |
| KZMK-H组 | 0.329±0.126*** | 0.470±0.080*** | 0.650±0.135*** |

注:#和###分别表示与Sham组相比 $P < 0.05$ 、 $P < 0.001$; **和***分别表示与Mod组相比 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ 。

Note: # and ### denote $P < 0.05$ and $P < 0.001$ compared with Sham group, respectively; ** and *** denote $P < 0.01$ and $P < 0.001$ compared with Mod group, respectively.

AKT 信号通路激活可导致 NF-κB 的活化^[17]。 PI3K 是生长因子受体超家族信号转导途径中的重

表4 KZMK颗粒对慢性细菌性前列腺炎大鼠前列腺组织关键蛋白(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 4 Effect of KZMK granules on expression of key protein ((TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)) in the prostate of rats with chronic bacterial prostatitis ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | TNF- α / β -actin | IL-1 β / β -actin | IL-6/ β -actin |
|---------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------|
| Sham组 | 0.324 \pm 0.101 | 0.696 \pm 0.130 | 0.458 \pm 0.087 |
| Mod组 | 1.453 \pm 0.108### | 1.444 \pm 0.164### | 1.287 \pm 0.062### |
| KZMK-L组 | 0.661 \pm 0.099*** | 0.852 \pm 0.111*** | 0.751 \pm 0.168*** |
| KZMK-H组 | 0.495 \pm 0.083*** | 0.623 \pm 0.088*** | 0.573 \pm 0.105*** |

注:###表示与Sham组相比 $P < 0.001$;***表示与Mod组相比 $P < 0.001$ 。

Note:### denotes $P < 0.001$ compared with Sham group;*** denotes $P < 0.001$ compared with Mod group.

要一员,可被多种细胞因子和理化因素激活,激活后磷酸化的PI3K直接作用于下游因子AKT,使AKT磷酸化反应激活IKK,进而激活NF- κ B信号通路^[18]。NF- κ B信号通路能被病原体、活性氧、紫外线和辐射激活,是调控炎症和免疫应答的关键通路^[19]。此外,TNF- α 、IL-6是许多研究公认的与炎症发展密切相关的细胞因子^[20]。当受到细菌脂多糖、TNF- α 等刺激后,NF- κ B通路被激活并诱导炎症发生^[21-22]。本研究表明,KZMK颗粒能够抑制PI3K-AKT/NF- κ B通路蛋白的表达,推断KZMK颗粒可以通过抑制PI3K-AKT/NF- κ B通路蛋白的活化来发挥抗CBP作用。

动物实验验证了KZMK颗粒的治疗效果及其分子机制。病理学观察显示,KZMK颗粒能显著改善CBP模型大鼠的前列腺炎症浸润情况。在分子水平上,ELISA检测证实,其可有效降低IL-6、TNF- α 等炎症因子水平。Western blot结果揭示,KZMK颗粒通过抑制PI3K、AKT等蛋白的磷酸化阻断PI3K-AKT/NF- κ B信号通路活化,从而发挥抗炎作用。这些发现与其网络药理学预测结果相互印证,形成了从生物信息预测到实验验证的完整证据链。

综上所述,KZMK颗粒通过多靶点、多通路协同作用治疗CBP,具有显著优势,不仅能直接抑制病原体生长,更能通过调控关键信号通路改善前列腺微环境,阻断炎症恶性循环。这种整合网络药理学与实验验证的研究策略,不仅阐明了KZMK颗粒的复杂作用机制,也为开发新型前列腺炎治疗药物提供了重要参考。

参考文献

[1] 贾志超,吕佳康,曾银.慢性前列腺炎/慢性盆腔疼痛综合征中药新药临床试验设计的思考[J].中国临床药理学杂志,2022,38(3):281-284.
Jia Z C, Lü J K, Zeng Y. Consideration on clinical trial design of traditional Chinese medicine for chronic prosta-

titis/chronic pelvic pain syndrome [J]. The Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2022, 38 (3) : 281-284.
[2] 丁胜杰,郝征,赵舒武,等.中西医结合治疗慢性前列腺炎文献研究[J].中医研究,2022,35(1):72-75.
Ding S J, Hao Z, Zhao S W, et al. Integrative medicine in the treatment of chronic prostatitis [J]. Traditional Chinese Medicinal Research, 2022, 35(1): 72-75.
[3] 杨胜红,欧应勇,欧阳瑶.IL-17A及PI3K/AKT/mTOR信号通路在气道重塑中的研究进展[J].实用医学杂志,2022,38(1):116-119.
Yang S H, Ou Y Y, Ouyang Y. Research progress of IL-17A and PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in airway remodeling [J]. The Journal of Practical Medicine, 2022, 38(1): 116-119.
[4] Feng B, Dong Z L, Wang Y R, et al. Li-ESWT treatment reduces inflammation, oxidative stress, and pain via the PI3K/AKT/FOXO1 pathway in autoimmune prostatitis rat models [J]. Andrology, 2021, 9 (5) : 1593-1602.
[5] 王仁,木斯林·苏克尔拜.一种治疗泌尿系炎症的药物及其制备方法:200810082682[P].2012-01-04.
Wang R, Musilin·Sukuerbay. A drug for treating urinary system inflammation and its preparation method: CN200810082682[P]. 2012-01-04.
[6] 海拉提·哈力毛拉,娜地牙·牙生.医药志:第2版[M].北京:新疆人民出版社,2013.
Hamlat·Hamulla, Nadiya·Yasheng. Medical records [M]. 2nd ed. Beijing: Xinjiang People's Publishing House; 2013.
[7] Nuerbaheti H, Ydyrys A, Tuleuhanov S, et al. Study on the effect of the Kazakh Traditional Medicine Kezimuk granules to the immunologic function of cyclophosphamide induced immunosuppressed mice [J]. International Journal of Biology and Chemistry, 2017, 10 (1): 50-56.
[8] 陈奇.中药药理研究方法学:第3版[M].北京:人民卫生出版社,2011.

- Chen Q. Methodology of pharmacological research on Chinese materia medica[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011.
- [9] Magistro G, Wagenlehner F M E, Grabe M, et al. Contemporary management of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome[J]. *European Urology*, 2016, 69(2): 286-297.
- [10] 郑军状,董静波,陈湛,等. 加味当归贝母苦参丸对慢性非细菌性前列腺炎大鼠前列腺组织炎症及脊髓氧化应激的影响[J]. *中国中医药科技*, 2021, 28(2): 196-200.
- Zheng J Z, Dong J B, Chen Z, et al. Effects of Jiawei Danggui Beimu Kushen pill on pathological changes of prostate tissue and oxidative stress of spinal cord in CNP rats[J]. *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*, 2021, 28(2): 196-200.
- [11] Imran M, Ghorat F, Ul-Haq I, et al. Lycopene as a natural antioxidant used to prevent human health disorders[J]. *Antioxidants*, 2020, 9(8): 706.
- [12] Shafi A A, Yen A E, Weigel N L. Androgen receptors in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013, 140(3): 223-238.
- [13] 李紫薇,黄菁菁,杨婉花. Nrf2和NF- κ B通路在药源性肝损伤中交互的分子机制[J]. *中国药学杂志*, 2018, 53(9): 666-670.
- Li Z W, Huang J J, Yang W H. Interactive molecular mechanism between Nrf2 and NF- κ B pathways in drug induced liver injury[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2018, 53(9): 666-670.
- [14] Chen H C, Xie Y, Deng C C, et al. The anti-inflammatory and antioxidative effects of ningmitai capsule in the experimental autoimmune prostatitis rat model[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 2020(1): 5847806.
- [15] 努尔巴合提·候瓦提,阿西亚·拜山伯. 柯孜木克颗粒剂对急性逆行性肾盂肾炎大鼠的影响[J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(2): 160-162.
- Nuerbaheti·Houwati, Asiya·Baishanbo. Study of Kezimuke granules on acute retrograde pyelonephritis in the rat model [J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2014, 30(2): 160-162.
- [16] Shukla S, Kanwal R, Shankar E, et al. Apigenin blocks IKK α activation and suppresses prostate cancer progression [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(31): 31216-31232.
- [17] 赵明,金珊. 槲皮素对Ⅲ型慢性前列腺炎/骨盆疼痛综合征模型大鼠作用及其机制研究[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2019, 34(7): 545-548.
- Zhao M, Jin S. Study on the effect and mechanism of quercetin on type III chronic prostatitis/pelvic pain syndrome rats[J]. *Journal of Clinical Urology*, 2019, 34(7): 545-548.
- [18] 郑军状,董静波,陈伟伟,等. 当归贝母苦参丸对CNP大鼠前列腺组织IL-1 β 、IL-10、TNF- α 表达的影响[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2020, 18(23): 126-130.
- Zheng J Z, Dong J B, Chen W W, et al. Effect of Danggui Beimu Kushen pill on expression of IL-1 β , IL-10 and TNF- α in rat with chronic nonbacterial prostatitis [J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2020, 18(23): 126-130.
- [19] Lyu Q K, Wawrzyniuk M, Rutten V P M G, et al. Hsp70 and NF- κ B mediated control of innate inflammatory responses in a canine macrophage cell line[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(18): 6464.
- [20] Asadi M, Taghizadeh S, Kaviani E, et al. Caspase-3: Structure, function, and biotechnological aspects [J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2022, 69(4): 1633-1645.
- [21] 游旭军,傅伟,张清,等. 清热活血法治疗慢性前列腺炎临床疗效和生活质量的Meta分析[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2020, 26(1): 153-160.
- You X J, Fu W, Zhang Q, et al. Meta-analysis of clinical efficacy and quality of life in treatment of chronic prostatitis with qingre huoxue therapy[J]. *Chinese Journal of Surgery of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2020, 26(1): 153-160.
- [22] 时雪,朱闽,戴芳,等. 清热活血类中药对自身免疫性前列腺炎(EAP)模型相关炎症因子干预作用的系统评价[J]. *山东中医杂志*, 2020, 39(7): 719-725.
- Shi X, Zhu M, Dai F, et al. Systematic review of the efficacy of clearing heat and activating blood medicinals on experimental autoimmune prostatitis [J]. *Shandong Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 39(7): 719-725.