

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.01.017

管庆霞, 杨芳芳, 杨志平, 等. 基于网络药理学与分子对接技术探究逍遥丸治疗乳腺增生的作用机制[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(1): 134-149.

GUAN Q X, YANG F F, YANG Z P, et al. Research on the mechanism of xiaoyao pill in treating hyperplasia of mammary gland was explored based on network pharmacology and molecular docking technology[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(1): 134-149.

基于网络药理学与分子对接技术探究 逍遥丸治疗乳腺增生的作用机制

管庆霞, 杨芳芳, 杨志平, 聂泽卉, 周小影, 林泽榆, 陈忠新, 邹淑君✉

(黑龙江中医药大学 药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 用网络药理学方法进行逍遥丸治疗乳腺增生过程的机制研究。通过中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)进行逍遥丸活性成分的搜集和筛选,将纳入的化合物成分通过TCMSP数据库进行成分的靶点预测;在GeneCards数据库,NCBI基因数据库以及OMIM数据库进行乳腺增生疾病靶点筛选;取药物靶点和疾病靶点作韦恩图,并利用共有靶点在String数据库中作PPI网络图,利用拓扑分析和MCODE聚类分析筛选核心靶点和核心基因;在cytoscape 3.8.0软件中进行关键活性成分的筛选;关键靶点使用String数据库进行GO分析和KEGG分析,将相关结果导入Cytoscape3.8.0绘制成分—疾病—通路—靶点网络图。结果表明,筛选得到逍遥丸各药活性成分及靶点,其中与乳腺增生相关的有169个靶点。STAT3、AKT1、MAPK1、JUN、MAPK3等20个靶点为该药治疗乳腺增生的关键靶点,HTR2A、IL2、TOP2A、PCNA、MMP1为该药治疗乳腺增生的核心基因。槲皮素(quercetin)、山奈酚(kaempferol)、叶黄素(luteolin)、柚皮素(naringenin)、甘草酮a(licochalcone a)、7-甲氧基-2-甲基异黄酮(7-Methoxy-2-methyl isoflavone)、芒柄花素(formononetin)、醋栗素(acacetin)等可能是逍遥丸治疗乳腺增生发挥主要作用的主要活性成分。GO富集分析总共富集到2328条生物过程,160项分子功能相关,47项细胞组成相关。通路富集分析显示与166条通路相关,涉及AGE-RAGE信号通路、TNF信号通路、IL-17信号通路、TH17细胞分化、流体剪切应力与动脉粥样硬化等信号通路。分子对接验证结果说明关键活性成分与核心靶点均对接良好。

关键词: 网络药理学; 逍遥丸; 乳腺增生; 关键靶点; 分子对接

中图分类号: TS201.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7561(2022)01-0134-16

网络首发时间: 2022-01-07 20:21:12

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20220107.1458.025.html>

收稿日期: 2021-10-28

基金项目: 黑龙江省自然科学基金面上项目(H2016076); 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12531624); 哈尔滨市应用技术与开发项目(青年后备人才A类)(2017RAQXJ090); 黑龙江中医药科研项目(ZHY8-047)

Supported by: General project of Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (No.H2016076); Science and technology research project of Heilongjiang Education Department (No.12531624); Harbin Applied technology research and development project (Young reserve talent CLASS A) (No.2017RAQXJ090); Heilongjiang TCM Research Project (No.ZHY8-047)

作者简介: 管庆霞,女,1974年出生,博士,副教授,研究方向为中药纳米递药系统及中药新药开发。E-mail: 546105832@qq.com.

通讯作者: 邹淑君,女,1974年出生,博士,副教授,研究方向为药物分析研究。E-mail: zou_sj1974@163.com.

Research on the Mechanism of Xiaoyao Pill in Treating Hyperplasia of Mammary Gland was Explored Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

GUAN Qing-xia, YANG Fang-fang, YANG Zhi-ping, NIE Ze-hui,
ZHOU Xiao-ying, LIN Ze-yu, CHEN Zhong-xin, ZOU Shu-jun✉

(School of pharmacy, Heilongjiang University Of Chinese Medicine, Harbin Heilongjiang 150040, China)

Abstract: The objective of this research is to study the mechanism of Xiaoyao pill in the treatment of breast hyperplasia by using network pharmacological formula. The active components of Xiaoyao pill were collected and screened in the Pharmacological Database and Analysis Platform of Chinese Medicine (TCMSP), and the included compounds were predicted by TCMSP database. GeneCards database, NCBI gene database and OMIM database were used for screening of breast hyperplasia disease targets. The drug targets and disease targets were selected to make a Venn diagram, and the common targets were used to make a PPI network diagram in the String database. Topological analysis and MCODE cluster analysis were used to screen the core targets and core genes. The key active ingredients were screened in Cytoscape 3.8.0 software. The STRING database was used for GO analysis and KEGG analysis for key targets, and the relevant results were imported into Cytoscape 3.8.0 to draw the component-disease-path path-target network diagram. The active components and targets of Xiaoyao Pills were screened, among which 169 targets were related to breast hyperplasia. Stat3, Akt1, MAPK1, Jun, MAPK3 and other 20 targets were the key targets of this drug in the treatment of breast hyperplasia, and HTR2A, IL2, TOP2A, PCNA, MMP1 were the core genes of this drug in the treatment of breast hyperplasia. Quercetin, Kaempferol, luteolin, naringenin, licochalcone A, 7-methoxy-2-methyl isoflavone, formononetin, and acacetin may be the main active components of Xiaoyao Pill in the treatment of breast hypertrophy. A total of 2328 biological processes were enriched by GO enrichment analysis, with 160 molecular function correlations and 47 cell composition correlations. Enrichment analysis showed that it was associated with 166 pathways, including AGE-RAGE signaling pathway, TNF signaling pathway, IL-17 signaling pathway, Th17 cell differentiation, fluid shear stress and atherosclerosis signaling pathway. The molecular docking verification results showed that the key active ingredients and core targets were well docking. From the perspective of network pharmacology, the potential mechanism and pharmacological substance basis of Xiaoyao pill in the treatment of breast hyperplasia are preliminarily revealed, providing ideas for the follow-up research on Xiaoyao pill in the treatment of gynecological diseases.

Key words: network pharmacology; Xiaoyao pill; breast hyperplasia; the key targets; molecular docking

逍遥丸的前身为逍遥散，其在《太平惠民和剂局方》首次被记载，由柴胡、当归、白术、芍药、茯苓、甘草、薄荷、生姜八味药组成。治血虚劳倦，五心烦热，肢体疼痛，头目昏重，心忪颊赤，口燥咽干，发热盗汗，减食嗜卧，及血热相搏，月水不调，脐腹胀痛，寒热如疟。又疗室女血弱阴虚，荣卫不和，痰嗽潮热，肌体羸瘦，渐成骨蒸，此方常用来疏肝解郁、妇科调经。方中柴胡为君药，行其疏肝解郁之功。当归为臣药，养血和血皆可理气；白芍亦为臣药，养血柔肝皆

可敛阴；当归、白芍与柴胡共用，补肝和肝，血和可以达到肝和之效，血液充营则起到柔肝之功，共同作为臣药起作用。白术、茯苓、甘草共为佐药，既健脾又益气，既能实土以御木侮，且使营血生化有源。薄荷少许，疏肝散热兼行气；生姜温中散寒，辛散解郁，两者为佐药。柴胡为肝经引经药，又是方中的使药。逍遥丸在临床上可用于治疗妇科疾病、免疫疾病、肝脏疾病、应激性损伤、内分泌疾病、神经疾病等，疗效确定^[1]。现代药理学研究表明，逍遥丸可以通过使乳腺增

生大鼠 ER、PR、ERK 含量明显升高^[2]、血清雌二醇(E2)和孕酮(P)水平显著降低^[3]来达到治疗乳腺增生疾病的效果。乳腺疾病占有乳腺疾病的70%以上,与内分泌紊乱、激素敏感性提高有关,西医尚没有疗效显著的方法^[4-5]。近年来,随着中药对乳腺增生临床疗效的研究不断深入^[6-8],中医药对乳腺疾病的疗效越发显著确切,中医在乳腺增生疾病治疗机制方面具有很大的探究空间。

在探索中药作用于人体的机制过程中,人们引入了网络药理学更加便捷直观地了解到药物作用过程,可以为优化用药过程提供基础。刘琳^[9]等运用网络药理学分析了逍遥丸治疗抑郁症的作用机制,杨萍^[10]等运用网络药理学分析了逍遥丸治疗认知障碍的作用机制,陈铭泰^[11]等运用网络药理学分析了逍遥散治疗动脉粥样硬化和抑郁症“异病同治”的作用机制。逍遥丸对于乳腺增生的研究日渐深入,但是对于其机制的阐述尚不完全。本课题组利用逍遥丸有效活性成分和乳腺增生潜在靶点,扩充逍遥丸对乳腺疾病治疗机制探究,有利于新剂型的研发和药物新用途的开发。

1 材料与方法

1.1 筛选逍遥丸活性成分并获取作用靶点

以口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)和药物相似度(Drug likeness, DL)作为筛选条件,在中药系统药理学数据库和分析平台^[12](Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP, <http://tcmssp.com/tcmssp.php>)中,以白芍、炒白术、薄荷、柴胡、当归、茯苓、甘草和生姜为关键词,成分筛选条件为 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$, 筛选8味中药所含化学活性成分,将纳入的化合物成分通过 TCMSP 数据库进行成分的靶点预测。利用 Uniprot 蛋白质数据库(Universal Protein, <https://www.uniprot.org/>)将预测出的蛋白质靶点和基因信息进行规范。

1.2 获取乳腺增生相关靶点基因

以“hyperplasia of mammary glands”为关键词,在 GeneCards^[13]数据库(<https://www.genecards.org/>),NCBI 基因数据库^[14](<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)以及 OMIM 数据库^[15](<http://ctdbase.org/>)中,其中, GeneCards 数据库根据数据库中 score 进行中位值的筛选以获得更相关的靶点,将乳腺增生疾病相关靶点进行汇总,并利用 Uniprot 蛋白质数据库将得到的靶点转化为标准基因名。

1.3 筛选逍遥丸有效成分和乳腺增生疾病的共同靶点

将筛选出的逍遥丸有效成分靶点与乳腺增生疾病靶点输入韦恩图制作软件 Venny 2.1(<https://www.genecards.org/>)中,通过映射构建韦恩图得到交集基因,可以由所得到的交集基因推断得到逍遥丸发挥作用的节点,作为药物作用于疾病的预测靶点进行下面的通路富集分析。

1.4 PPI 网络构建

将药物疾病共有靶点输入 String 数据库^[16](<https://string-db.org/>)进行 PPI 网络的构建,将生物种类设定为“Homo sapiens”,可信度 >0.9 ,获得 PPI 网络数据,并将所得信息导入 cytoscape 软件进行相互作用网络的绘制和进一步分析。

1.4.1 拓扑分析

拓扑分析,通过 degree 排序,选取分值大于平均分的基因作为关键靶点将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.8.0^[17]中,通过 NetworkAnalyzer 工具进行分析。

1.4.2 MCODE 聚类分析

本研究通过 MCODE 分析进行关键基因的筛选。将已经构建好的 PPI 网络导入 Cytoscape 3.6.0 中,打开 MCODE 模块进行基因簇的分析以及核心靶点的筛选。

1.5 成分-疾病-靶点网络构建

以纳入的成分、治疗疾病以及作用靶点为基础,导入 cytoscape 3.8.0 中,构建了成分-疾病-靶点网络图,从而更好的理解成分,疾病以及相应靶点之间的复杂相互作用关系。

1.6 关键成分筛选

将成分-疾病-靶点网络图,导入 cytoscape 3.8.0 中进行拓扑分析。将成分进行 degree 的排序,大于平均度值的被筛选为关键成分。

1.7 GO 富集分析和 KEGG 通路富集分析

将药物疾病共有靶点进行京都基因(GO)富集分析和基因组百科全书(KEGG)通路富集分

析,将物种类设定为“Homo sapiens”,引用 String 数据库,将校正 P 值 ≤ 0.05 的项目进行筛选,获取数据并绘制气泡图和条形图。GO 富集分析使用 R 3.6.3 软件,安装并引用 clusterProfiler, enrichplot, ggplot2 包,进行柱状图和气泡图绘制。KEGG 通路富集分析使用 R 3.6.3,安装并引用 clusterProfiler 包后,进行柱状图和气泡图绘制。

1.8 成分-疾病-通路-靶点网络构建

将成分-疾病-通路-靶点网络文件导入 Cytoscape 3.8.0 进行通路网络图的绘制。更直观地展示中药活性成分在治疗乳腺增生过程中的多成分-多靶点的作用特点。

1.9 分子对接验证

利用 ChemOffice 软件构建关键活性成分的 3D 结构,将格式保存为 pdb。在 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org>) 下载 AKT1 (PDB ID: 6HHG)、MAPK1 (PDB ID: 3QYZ)、JUN (PDB ID: 2P33)、MAPK3 (PDB ID: 6GES)、STAT3 (PDB ID: 5AX3) 的晶体结构。运用 AutoDock Tools 1.5.6 软件对其进行去水,加氢,分离配体等处理后保存为 pdqt 格式,药物关键活性成分处理后同亦保存为 pdqt 格式。使用 AutoDock vina 软件进行分子对接,并用 Pymol 软件进行可视化分析对接构象。

2 结果与分析

2.1 逍遥丸活性成分靶点信息查询

通过 TCMSP 数据库 (<https://tcmssp.com/tcmssp.php>) 检索白芍、炒白术、薄荷、柴胡、当归、茯苓、甘草和生姜的化合物成分。成分筛选条件为 $OB \geq 30\%$, $DL \geq 0.18$ 。将纳入的化合物成分通过 TCMSP 数据库进行成分的靶点预测。经汇总删重后,白芍获得 13 个化合物成分,78 个靶点;白术获得 7 个化合物成分,16 个靶点;薄荷获得 10 个化合物成分,97 个靶点;柴胡获得 17 个化合物成分,176 个靶点;当归获得 2 个化合物成分,51 个靶点;茯苓获得 15 个化合物成分,23 个靶点;甘草获得 93 个化合物成分,215 个靶点;生姜获得 5 个化合物成分,54 个靶点。

2.2 疾病靶点查找

在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>), NCBI 基因数据库^[3] (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 以及 OMIM 数据库^[4] (<http://ctdbase.org/>) 中以“hyperplasia of mammary glands”为关键词进行检索,经检索,在 GeneCards 数据库检索到 2261 条相关基因,NCBI 数据库获得 6 个基因,OMIM 数据库获得 455 个靶点。将这 3 个数据库的基因合并删重之后,得到 2 678 个乳腺增生相关基因。

2.3 逍遥丸有效成分和乳腺增生疾病的靶点取交集

将筛选出的药物靶点与疾病靶点输入韦恩图制作软件 Venny 2.1,得到 169 个共有靶点,见图 1。作为药物作用于疾病的预测靶点进行下面的通路富集分析。

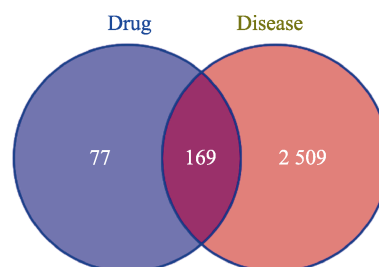


图 1 药物靶点-疾病靶点韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of targets of herbs and disease

2.4 PPI 网络构建

将药物疾病共有靶点输入 String 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 进行 PPI 网络的构建,将生物种类设定为“Homo sapiens”,可信度 >0.9 ,得到 PPI 网络。该网络中有 169 个节点,698 条边,平均度值为 8.26。图 2 为 string 网站导出的 PPI 网络图(图 2 中的节点越大,颜色越红,表示度值越大,线越粗表示 edge betweenness 越大)。图 3 为 cytoscape 软件绘制出的 PPI 网络图。

2.4.1 拓扑分析

拓扑分析,通过 degree 排序,选取分值大于平均分的基因作为关键靶将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.8.0 中,通过 NetworkAnalyzer 工具进行点,总共筛选出个 56 关键靶点,将前 20 个靶点使用 R 3.6.3 进行图片绘制,其中横坐标为每个靶点的度值,见图 4。这 30 个核心蛋白是整个网络的靶点,是逍遥丸治疗乳腺增生的潜在靶点。

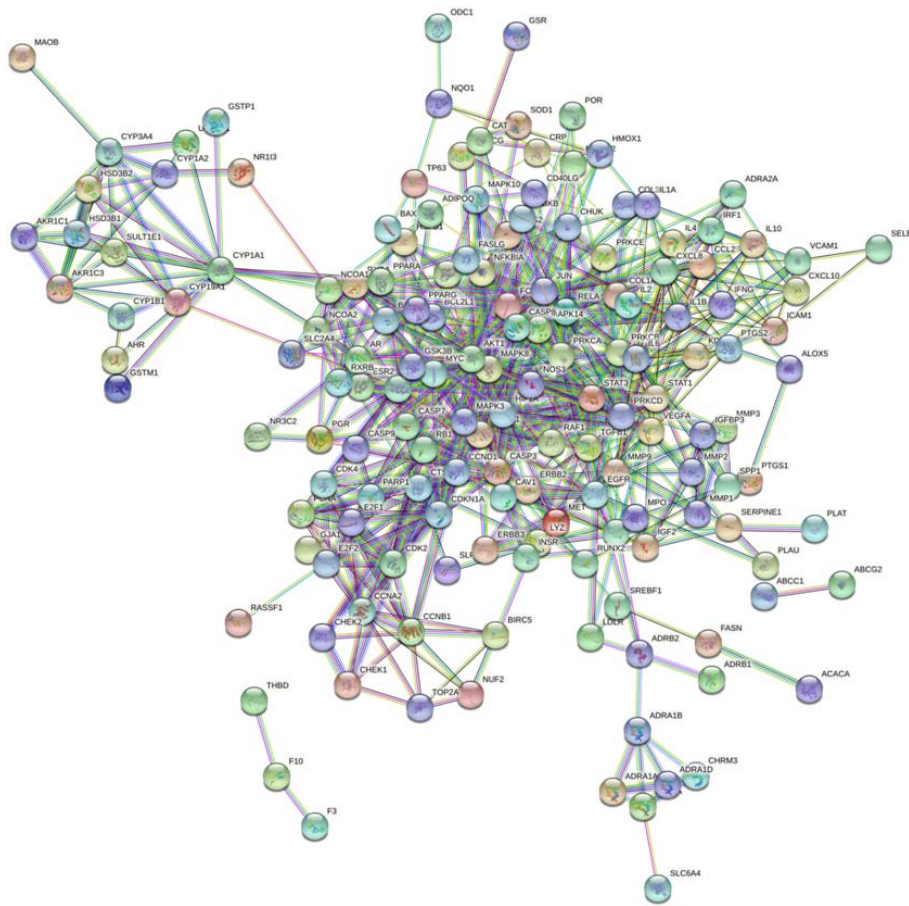


图 2 STRING 平台所做的乳腺增生和逍遥丸共有靶点 PPI 网络

Fig. 2 PPI network of hyperplasia of mammary glands target and XiaoYaoWan target from STRING

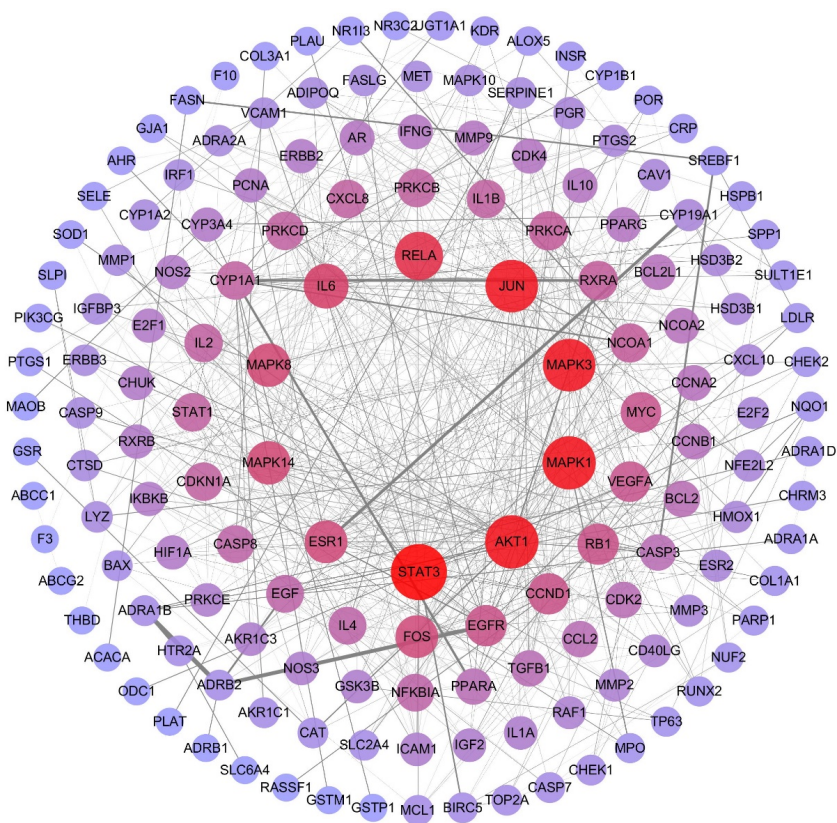


图 3 Cytoscape 软件所做的乳腺增生和逍遥丸共有靶点 PPI 网络

Fig. 3 PPI network of hyperplasia of mammary glands target and XiaoYaoWan target from Cytoscape

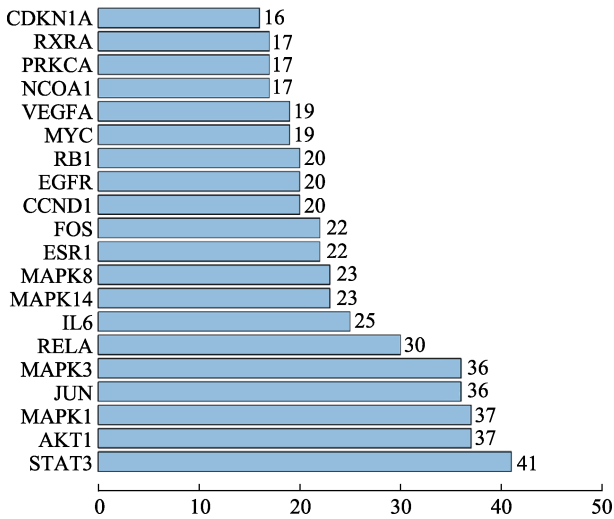


图 4 度值排名前 20 的靶点

Fig. 4 Top 20 targets with degree values

2.4.2 MCODE 聚类分析

本研究通过 MCODE 分析^[18]进行关键基因的筛选。将已经构建好的 PPI 网络导入 Cytoscape 3.6.0 中, 打开 MCODE 模块进行基因簇的分析以及核心靶点的筛选。总共得到 7 个基因簇和 5 个核心基因, 核心基因为 HTR2A, IL2, TOP2A, PCNA, MMP1。具体信息见表 1。

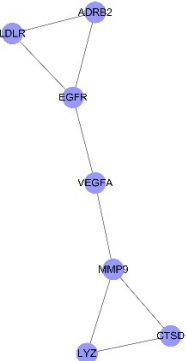
2.5 成分-疾病靶点网络构建

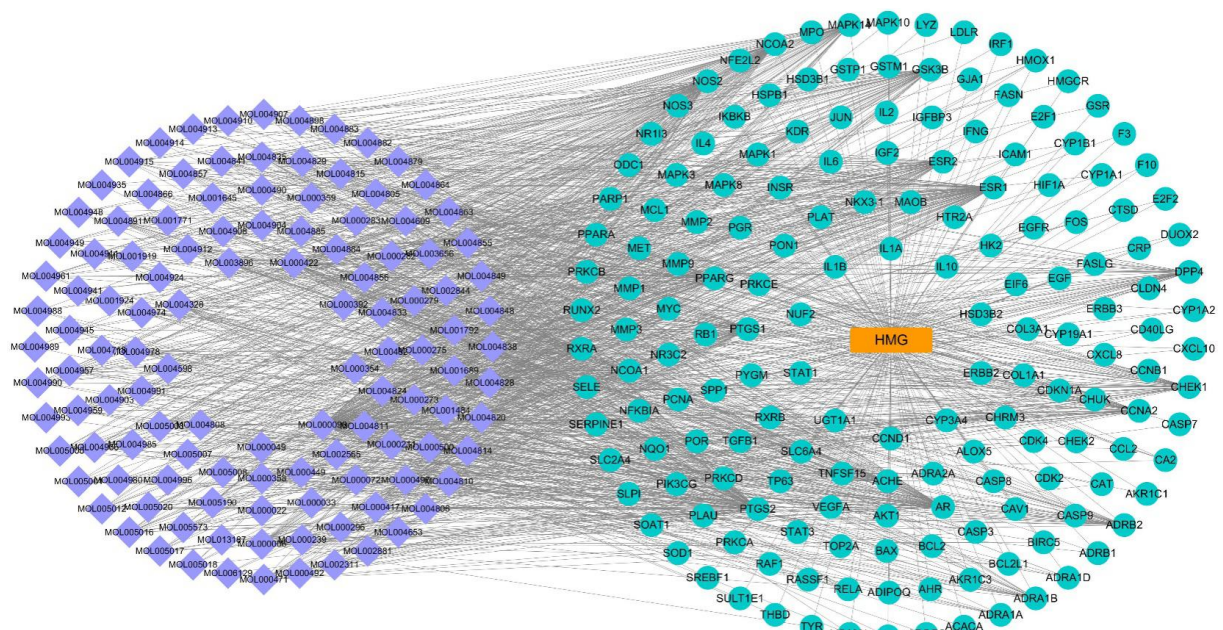
为了更好的理解成分, 疾病以及相应靶点之间的复杂相互作用关系, 作者以纳入的成分、治疗疾病以及作用靶点为基础, 构建了成分-疾病-靶点网络图, 导入 cytoscape 3.8.0 中进行网络图的绘制。所构建网络见图 5。

表 1 MCODE 聚类分析详细信息表
Table 1 MCODE cluster analysis details table

Cluster	Network	Nodes	Edges	Node IDs
1		22	71	CCND1, IL10, CCNA2, FOS, PRKCD, IL1B, CCNB1, CDKN1A, PPARA, MAPK8, ICAM1, RB1, IFNG, JUN, E2F2, PCNA, RAF1, E2F1, IL4, CDK2, CDK4, MAPK14
2		30	96	RELA, IL1A, BCL2L1, PRKCA, CXCL8, PRKCE, PRKCB, MAPK3, MYC, IL2, HIF1A, IKBKB, MAPK1, ESR1, CYP19A1, IL6, BCL2, ERBB2, RXRB, CCL2, NFKBIA, HSD3B2, AKR1C3, CHUK, HSD3B1, TGFB1, CYP3A4, AKR1C1, CYP1A1, NOS2
3		5	10	ADRA1B, CHRM3, ADRA1A, HTR2A, ADRA1D
4		4	5	MMP2, IGF2, MMP1, MMP3
5		3	3	TOP2A, NUF2, BIRC5

续表 1

Cluster	Network	Nodes	Edges	Node IDs
6		3	3	COL1A1, CASP8, COL3A1
7		7	8	VEGFA, LDLR, EGFR, MMP9, LYZ, CTSD



网络中淡紫色为活性成分，绿色为药物作用于疾病的靶点，橙色矩形为疾病
Mauve is the active ingredient, green is the target of drug action on the disease, the orange rectangle is disease

图 5 逍遥丸“成分-疾病-靶点”网络
Fig. 5 “Ingredient-disease-target” network of Xiao Yao Wan

2.6 关键成分筛选

在 cytoscape 3.8.0 中将成分-疾病-靶点网络图导入进行拓扑分析，成分按照 degree 排序，大于平均度值的为关键成分，并且 degree 值越高成分越重要。详细信息见表 2。关键成分有槲皮素(quercetin)、山奈酚(kaempferol)、叶黄素(luteolin)、柚皮素(naringenin)、甘草酮 a(licochalcone a)、7-甲氧基-2-甲基异黄酮(7-Methoxy-2-methyl isoflavone)、芒柄花素(formononetin)、醋栗素(acacetin)等，可能是逍遥丸治疗乳腺增生发挥作用的主要活性成分。

2.7 GO 富集分析

将药物疾病共有靶点进行 GO 的生物过程(biological process, BP)、分子功能(molecular function, MF)、细胞组分(cell component, CC)富集，引用 String 数据库，将校正 P 值≤0.05 的项目进行筛选，总共富集到 2 328 条生物过程，160 项分子功能相关，47 项细胞组成相关，结果见图 6~7。分析发现逍遥丸治疗乳腺增生的生物过程中位于前列的有氧化应激反应、细胞对化学应激的反应、对类固醇激素的响应、对脂多糖的响应、对细菌起源分子的响应、活性氧代谢过程、

表 2 关键成分信息表
 Table 2 Table of key ingredient information

MOL ID	Name	Average Shortest Path Length	Betweenness Centrality	Closeness Centrality	Degree
MOL000098	quercetin	1.864 583	0.145 358	0.536 313	111
MOL000422	kaempferol	2.329 861	0.029 727	0.429 21	39
MOL000006	luteolin	2.392 361	0.020 97	0.417 997	36
MOL004328	naringenin	2.503 472	0.013 478	0.399 445	26
MOL000497	licochalcone a	2.482 639	0.008 962	0.402 797	23
MOL003896	7-Methoxy-2-methyl isoflavone	2.482 639	0.004 368	0.402 797	23
MOL000392	formononetin	2.531 25	0.006 393	0.395 062	22
MOL001689	acacetin	2.503 472	0.007 331	0.399 445	20
MOL000358	beta-sitosterol	2.496 528	0.007 59	0.400 556	19
MOL004978	2-[(3R)-8,8-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[6,5-f]chromen-3-yl]-5-methoxyphenol	2.510 417	0.002 165	0.398 34	19
MOL000354	isorhamnetin	2.517 361	0.003 068	0.397 241	18
MOL000471	aloe-emodin	2.531 25	0.006 455	0.395 062	18
MOL000500	Vestitol	2.565 972	0.001 472	0.389 716	17
MOL004835	Glypallichalcone	2.565 972	0.001 716	0.389 716	17
MOL004891	shinpterocarpin	2.565 972	0.001 828	0.389 716	17
MOL004908	Glabridin	2.524 306	0.001 59	0.396 149	17
MOL004959	1-Methoxyphaseollidin	2.524 306	0.001 63	0.396 149	17
MOL005003	Licoagrocarpin	2.524 306	0.001 822	0.396 149	17
MOL000449	Stigmasterol	2.503 472	0.008 445	0.399 445	16
MOL004957	HMO	2.572 917	0.001 088	0.388 664	16
MOL004966	3'-Hydroxy-4'-O-Methylglabridin	2.531 25	0.001 098	0.395 062	16
MOL004974	3'-Methoxyglabridin	2.531 25	0.001 012	0.395 062	16
MOL004991	7-Acetoxy-2-methylisoflavone	2.531 25	0.001 382	0.395 062	16
MOL000417	Calycosin	2.538 194	7.85E-04	0.393 981	15
MOL002565	Medicarpin	2.579 861	0.002 514	0.387 618	15
MOL004815	(E)-1-(2,4-dihydroxyphenyl)-3-(2,2-dimethylchromen-6-yl)prop-2-en-1-one	2.538 194	0.001 289	0.393 981	15
MOL004833	Phaseolinisoflavan	2.579 861	6.84E-04	0.387 618	15
MOL004811	Glyasperin C	2.545 139	6.96E-04	0.392 906	14
MOL004820	kanzonols W	2.545 139	7.23E-04	0.392 906	14
MOL004857	Gancaonin B	2.545 139	8.43E-04	0.392 906	14
MOL004912	Glabrone	2.586 806	4.85E-04	0.386 577	14
MOL005016	Odoratin	2.545 139	6.65E-04	0.392 906	14
MOL004824	(2S)-6-(2,4-dihydroxyphenyl)-2-(2-hydroxypropan-2-yl)-4-methoxy-2,3-dihydrofuro[3,2-g]chromen-7-one	2.593 75	4.64E-04	0.385 542	13
MOL004828	Glepidotin A	2.593 75	4.99E-04	0.385 542	13
MOL004841	Licochalcone B	2.593 75	7.74E-04	0.385 542	13
MOL004849	3-(2,4-dihydroxyphenyl)-8-(1,1-dimethylprop-2-enyl)-7-hydroxy-5-methoxy-coumarin	2.552 083	7.19E-04	0.391 837	13
MOL005007	Glyasperins M	2.552 083	7.90E-04	0.391 837	13
MOL003656	Lupiwighteone	2.559 028	4.62E-04	0.390 773	12
MOL004808	glyasperin B	2.559 028	6.29E-04	0.390 773	12
MOL004856	Gancaonin A	2.559 028	5.20E-04	0.390 773	12
MOL004864	5,7-dihydroxy-3-(4-methoxyphenyl)-8-(3-methylbut-2-enyl)chromone	2.559 028	4.62E-04	0.390 773	12
MOL004907	Glyzaglabrin	2.600 694	2.82E-04	0.384 513	12
MOL004911	Glabrene	2.559 028	5.53E-04	0.390 773	12
MOL005000	Gancaonin G	2.559 028	4.62E-04	0.390 773	12

续表 2

MOL ID	Name	Average Shortest Path Length	Betweenness Centrality	Closeness Centrality	Degree
MOL004848	licochalcone G	2.565 972	4.93E-04	0.389 716	11
MOL004883	Licoisoflavone	2.565 972	5.14E-04	0.389 716	11
MOL004885	licoisoflavanone	2.607 639	3.42E-04	0.383 489	11
MOL004915	Eurycarpin A	2.607 639	2.12E-04	0.383 489	11
MOL004961	Quercetin der.	2.565 972	4.33E-04	0.389 716	11
MOL004990	7,2',4'-trihydroxy-5-methoxy-3-aryl coumarin	2.607 639	2.43E-04	0.383 489	11
MOL005012	Licoagroisoflavone	2.607 639	2.12E-04	0.383 489	11
MOL005020	dehydroglyasperins C	2.565 972	4.39E-04	0.389 716	11

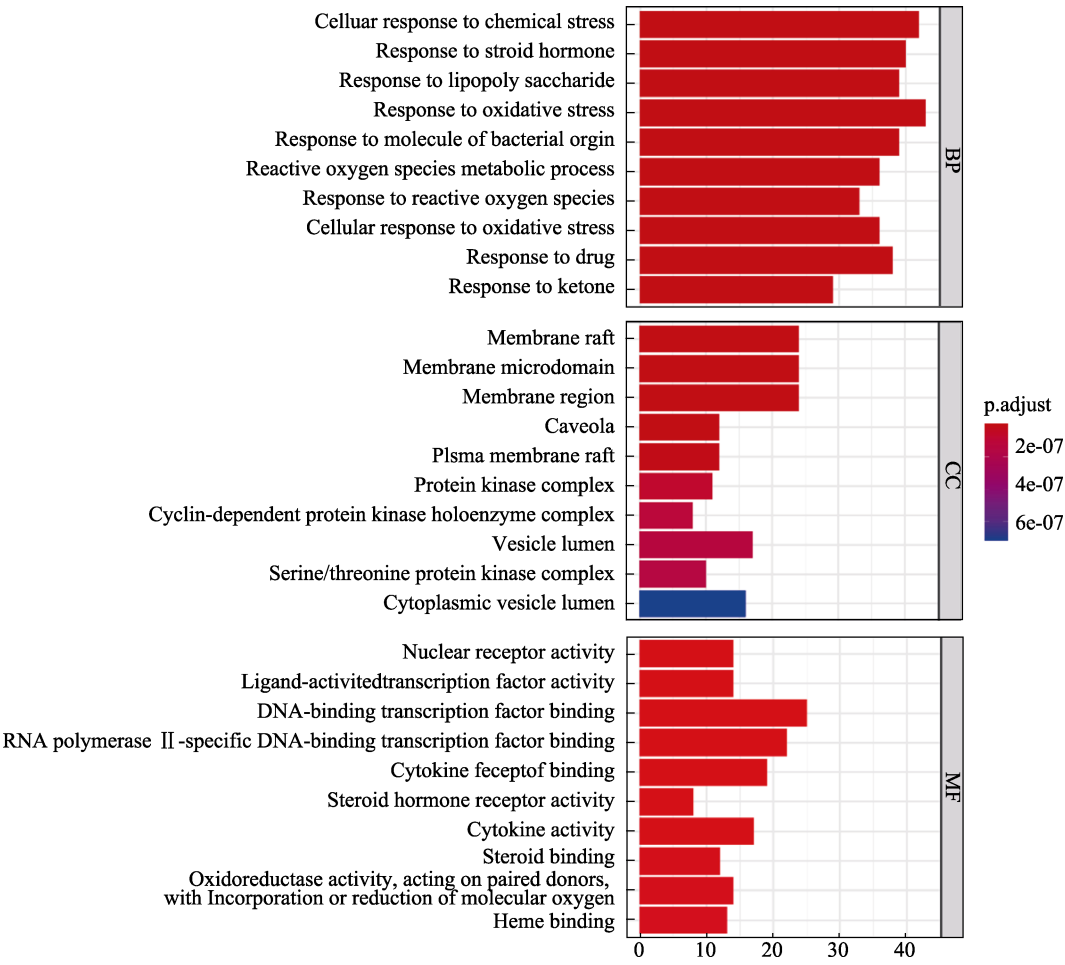


图 6 富集分析柱状图
Fig. 6 Enrichment analysis histogram

细胞对氧化应激的反应等过程；细胞组成位于前列的是膜筏、膜微域、囊泡、平滑肌细胞的小凹等；其分子功能中位于前列的是结合跟 DNA 相关的转录因子、结合跟 RNA 聚合酶 2-特定的 DNA 相关的转录因子、结合细胞因子受体、细胞因子活性、核受体活性等。

2.8 KEGG 通路富集

将药物疾病共有靶点进行 KEGG 通路富集分

析，引用 String 数据库，将校正 P 值 ≤ 0.05 的项目进行筛选，总共富集到 166 条信号通路，分析结果见图 8、图 9。主要包括糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路、IL-17 信号通路、TH17 细胞分化、流体剪切应力与动脉粥样硬化等信号通路，揭示了逍遥丸通过不同靶点作用于不同的通路来治疗乳腺增生。乙肝、丙肝、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染、前列腺癌、

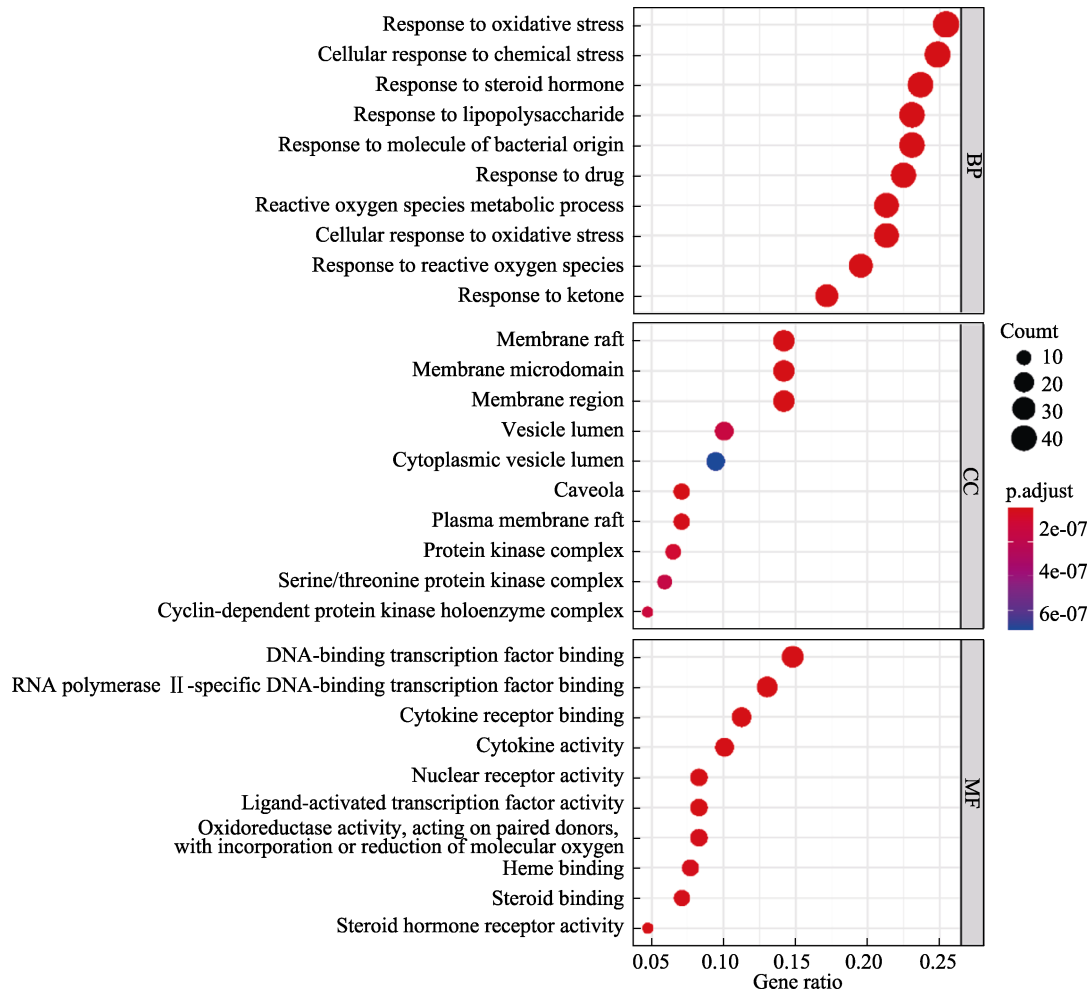


图 7 GO 富集分析气泡图

Fig. 7 GO Enrichment analysis bubble diagram

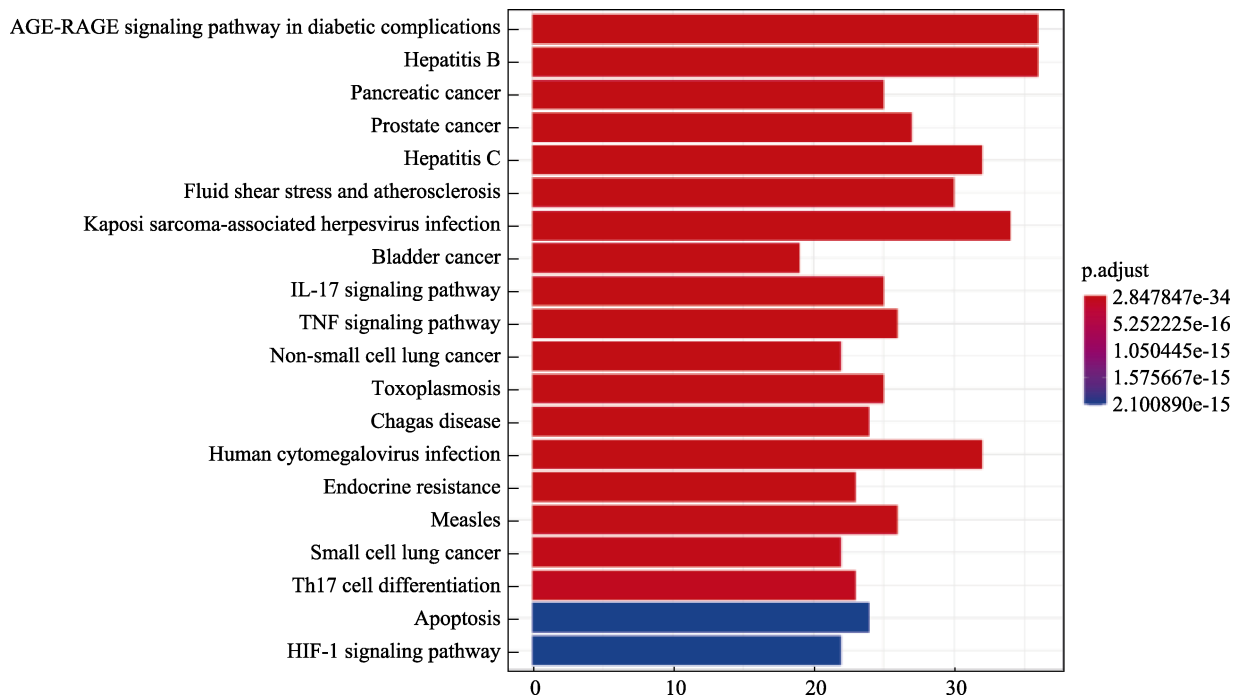


图 8 KEGG 通路富集分析柱状图

Fig. 8 KEGG pathway Enrichment analysis histogram

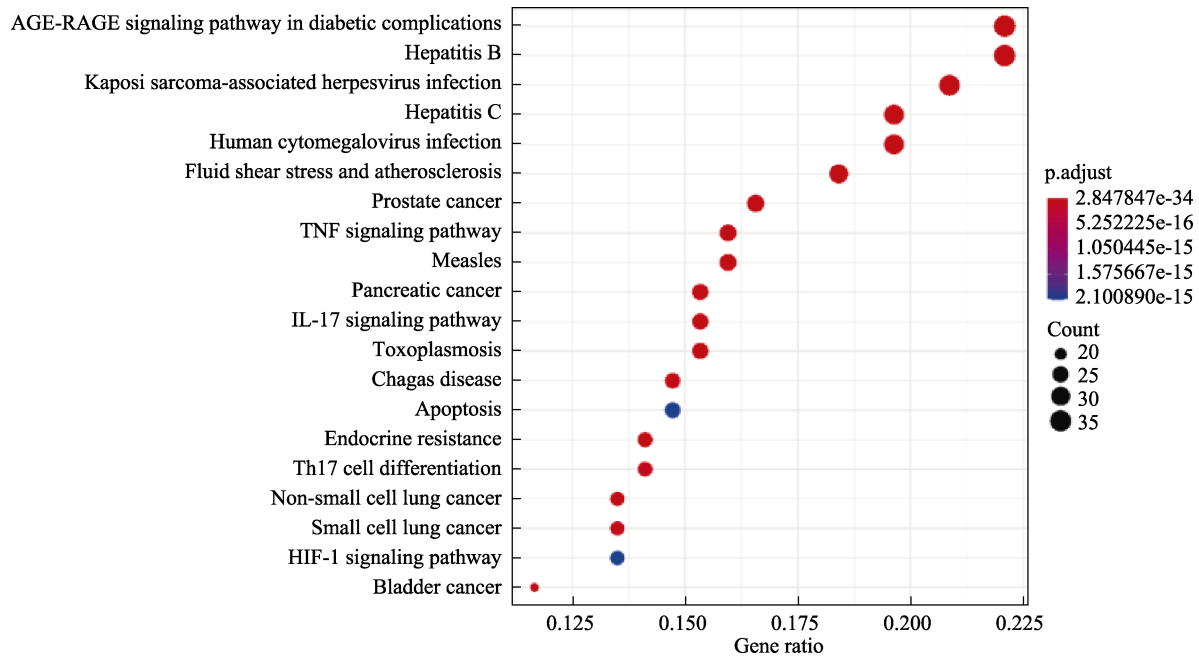


图 9 KEGG 通路富集分析气泡图

Fig. 9 KEGG pathway Enrichment analysis bubble diagram

麻疹、人巨细胞病毒感染提示逍遥丸可能对其他疾病的治疗也有效,这也体现了异病同治的原则。

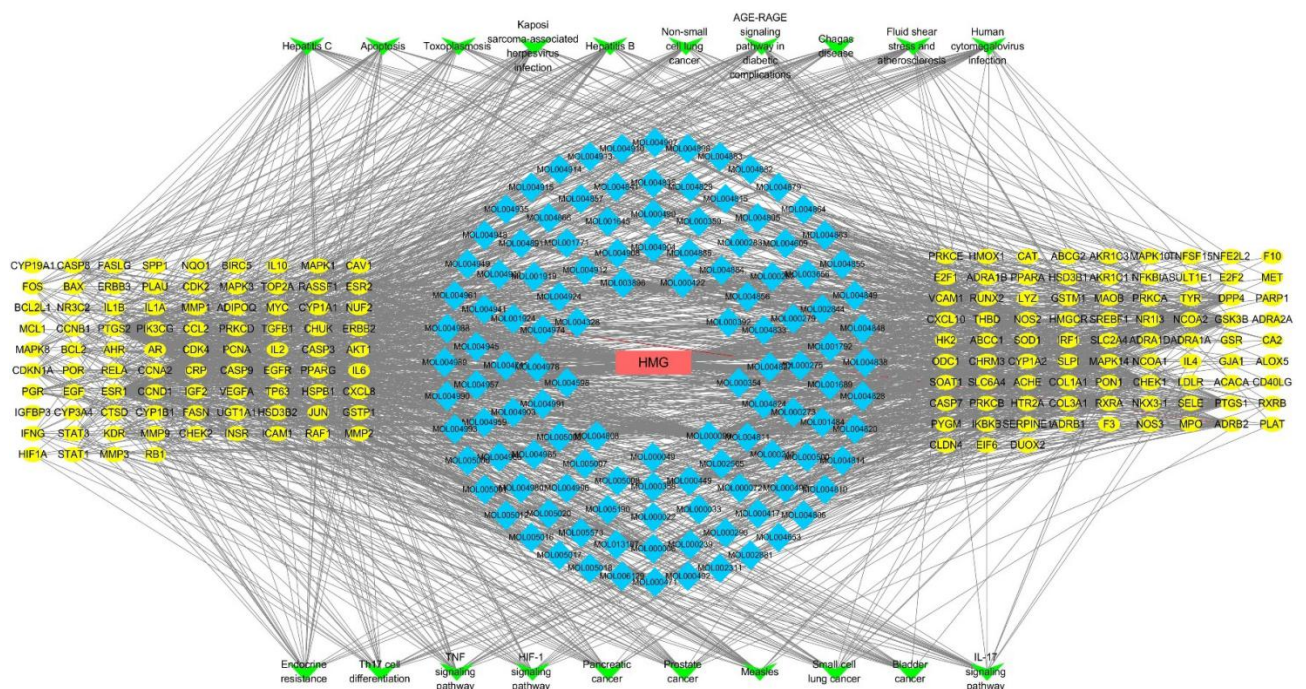
2.9 成分-疾病-通路-靶点网络构建

将成分-疾病-通路-靶点网络文件导入 Cytoscape 3.8.0 得到如图 10 所示网络图,表明逍遥丸可能

通过多成分、多靶点、多通路抑制乳腺增生的发生、发展。

2.10 分子对接

关键活性成分与核心靶点进行分子对接验证结果现实分子对接结合能均为负值,说明受体与



蓝色为化合物,黄色为中药作用于疾病的靶点,绿色为最显著的前 20 条通路,红色为疾病即乳腺增生。

Blue is the compound, yellow is targets of traditional Chinese medicine acts on disease, green is the top 20 most prominent pathways, red is a disease called breast hyperplasia

图 10 逍遥丸“成分-疾病-通路-靶点”网络

Fig. 10 “Ingredient-disease-pathway-target” network of XiaoYaoWan

表 3 关键靶点对接结果
Table 3 Molecular docking result of the key targets

化合物	结合能				
	槲皮素 (quercetin)	山奈酚 (kaempferol)	叶黄素 (luteolin)	柚皮素 (naringenin)	甘草酮 a (licochalcone a)
STAT3	-7.4-5-5ax3	-8.1	-8.1	-8.3	-8.9
AKT1	-8.8-4-6hhg	-8.2	-8.3	-9.0	-8.5
MAPK1	-7.5-3-3qyz	-7.0	-8.0	-7.9	-7.9
JUN	-8.1-1-2p33	-8.2	-8.3	-8.2	-8.6
MAPK3	-7.7-2-6ges	-7.3	-7.6	-8.1	-8.3

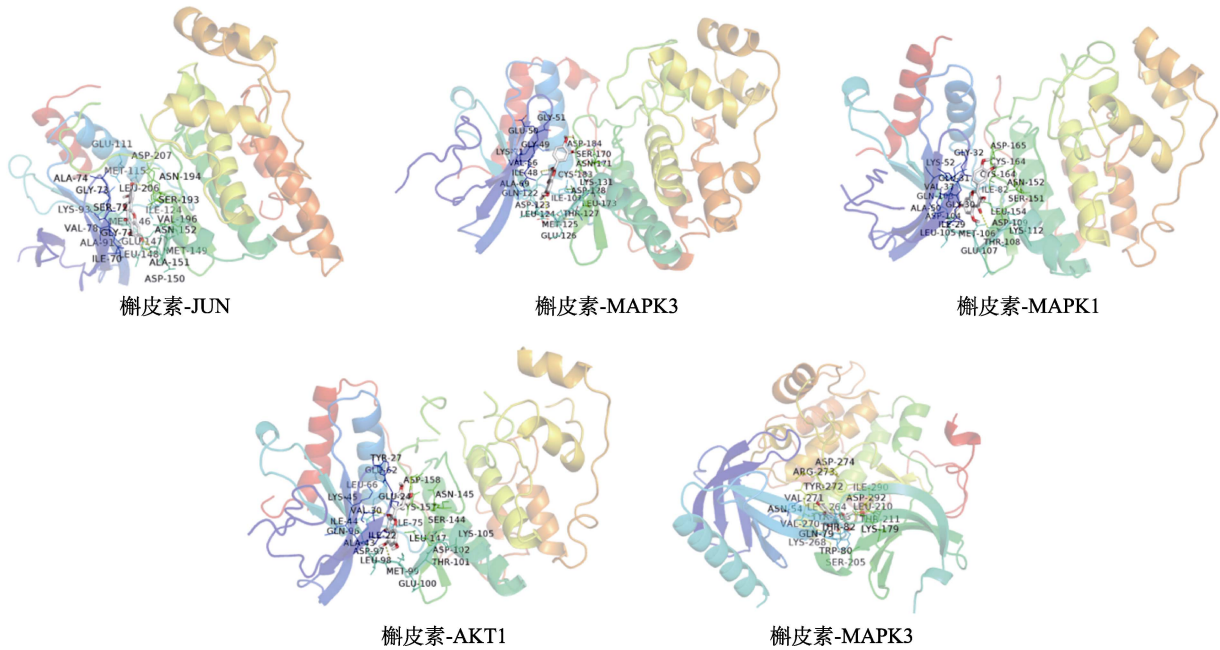


图 11 逍遥丸中核心成分的分子对接模式图
Fig. 11 Molecular docking mode diagram of core components in Xiaoyao Pills

配体可自发结合。亲和能越高，结合越差；反之，亲和能越低，结合越好。根据小分子与靶点对接的亲和能结果，可发现核心活性成分与关键靶点均有较好的结合能，说明中药在发挥临床疗效中多成分多靶点的特质。

3 讨论

乳腺增生在中医学中属于“乳癖”范畴，具体表现有乳房疼痛、有肿块、液体溢出，情志和月经周期也会有波动，在临床乳房疾病中发生率最高，并且乳腺增生严重很有可能发展为乳腺癌^[19]。目前西医治疗乳腺增生主要有三苯氧胺、他莫昔芬、托瑞米芬^[20]，中医治疗乳腺增生主要有逍遥散、柴胡疏肝散、乳癖散等。苏炯强^[21]等以负性情绪评分、乳房疼痛评分、乳房肿块大小为指标研究发现逍遥散组治疗乳腺增生疗效高于常规西药组，揭示逍遥散治疗乳腺增生疗效确切，

但是关于逍遥散治疗乳腺增生机制尚不明确。本课题组以网络药理学为基础，构建了“成分-疾病-通路-靶点”网络，直观科学地分析了逍遥丸对乳腺增生的作用机制。

选取所得到的关键靶点的前 5 个分别是 STAT3、AKT1、MAPK1、JUN、MAPK3。在人类基因自我更新过程中，STAT3 发挥着重要的作用，陈英杰等^[22]研究发现 STAT3 在乳腺增生和三阴性乳腺癌组织中显著表达，并且其表达具有显著差异。AKT1 可以促进正常乳腺细胞的生长，抑制其凋亡，进而对乳腺增生产生治疗作用^[23]。MAPK 信号通路通过调节下游产物活性，影响炎症细胞黏附血管内皮、在炎症部位激活并释放炎症因子以及凋亡过程^[24]，从而在乳腺增生治疗过程中发挥作用。其中 MAPK1 能参与到早期乳腺组织的增殖分化过程中，在卵巢和乳腺上皮细胞中的研究

表明抑制 MAPK1 进入细胞核会导致上皮细胞生长受到抑制,下调的 MAPK1 也容易促进细胞凋亡^[25-26]。上述这些靶点的明确为治疗乳腺增生药物新剂型和体内药动学研究提供了依据。

HTR2A、IL2、TOP2A、PCNA、MMP1 为该药治疗乳腺增生的核心基因。王齐敏^[27]通过沉默 MMP-1 基因,发现其可以抑制乳腺癌细胞的侵袭、增殖,进而对三阴性乳腺癌治疗作用。PCNA 表达仅限于细胞核内,是一种细胞增殖蛋白,可以反应细胞增殖的活性^[28]。很大一部分乳腺癌患者群体会扩增或过量表达出 TOP2A 型基因^[29]。IL2 在免疫调节中起着重要作用,其是辅助性 T 淋巴细胞分泌的细胞因子。Chulpanova^[30]等通过研究发现细胞松弛素 B 诱导过表达 IL2 的人间充质干细胞膜泡能够刺激 CD8 T 细胞杀伤三阴性乳腺癌细胞,说明其在乳腺中有一定的表达并且能够发挥抗癌作用。Hejazi^[31]等以 HTR2A 等为指标得出 5-羟色胺受体拮抗剂可能成为治疗乳腺癌细胞的新途径,说明 HTR2A 在乳腺组织中有表达。由文献及网络药理学结果可知,乳腺增生和乳腺癌有很密切的联系,这也为乳腺癌预防及检查提供了一定依据。

槲皮素 (quercetin)、山奈酚 (kaempferol)、叶黄素 (luteolin)、柚皮素 (naringenin)、甘草酮 a (licochalcone a) 为治疗乳腺增生的关键成分。槲皮素是一种天然的黄酮醇类化合物,具有显著的抗氧化作用,其可提高超氧化物歧化酶 (SOD) 活性,增强模式生物和非模式生物的氧化应激能力^[32]。山奈酚也是黄酮醇类化合物,且与槲皮素结构相似,亦有抗氧化作用,具有消除自由基功能^[33]。叶黄素是一种类胡萝卜素,兰芳^[34]等研究发现叶黄素组小鼠组织内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性升高,进而发挥抗氧化作用;可通过减少对免疫细胞细胞膜等的损害,提高免疫力;可诱导细胞凋亡^[35],根据相关报道,对细胞增殖和凋亡的调节是中药参与乳腺增生治疗过程中的主要环节^[36]。柚皮苷是一种天然双氢黄酮类化合物, Song 等^[37]通过动物实验推断出柚皮苷能通过调节 VEGF/VEGFR-2 通路来激发血管再生,而乳腺增生需要的营养大多从血管获得,这与治疗乳腺增生机制相违背,但是其亦有抗氧化、抗炎的药

理作用^[38],其在这过程中如何发挥作用是未来需要深入探讨的。甘草查尔酮 A 属于酚类查尔酮化合物,其具有抗氧化、抗炎、免疫促进等药理作用^[39],但是其对于乳腺组织及细胞的研究甚少,提示甘草查尔酮 A 对于乳腺增生的潜在治疗机制是未来需要分析的新方向。

通过通路富集分析,逍遥丸可以通过干预糖尿病并发症的 AGE-RAGE 信号通路、TNF 信号通路、IL-17 信号通路、TH17 细胞分化等信号通路发挥治疗乳腺增生的作用。AGEs-RAGE 轴调控的多条信号传导通路^[40],包括氧化应激、蛋白激酶 C 的活化、己糖胺途径、多元醇途径、脂质代谢紊乱和炎症反应,其中氧化应激、脂质代谢、多元醇途径涉及逍遥丸治疗乳腺增生的生物过程。研究结果显示,逍遥丸中的活性成分可能通过 MAPK1、IL6、AKT1、MAPK3、STAT3 等关键蛋白在 AGE-RAGE 信号通路发挥作用,从而治疗乳腺增生。AGE-RAGE 信号通路目前在治疗糖尿病的过程中研究较多,对于乳腺增生过程中其作用机制研究甚少,有广阔的探究空间。TNF 为肿瘤坏死因子,对肿瘤细胞具有选择性杀伤作用,参与全身的炎症反应,可通过调节 IL-6 水平、TNF- α 水平达到调节免疫的效果,进而参与乳腺增生的治疗^[41]。研究显示逍遥丸活性成分可能通过作用于 MAPK1、JUN、MAPK3、MMP3、AKT1、IL-6 等关键靶点及基因,靶向 TNF 信号通路调控相关炎症因子的表达,发挥治疗作用。IL-17A 可以激活 NF- κ B、MAPKs 和 C/EBP 级联信号,使一系列炎症因子的表达上调^[42],产生炎症反应。网络药理学结果发现其活性成分可能作用于 MMP1、MMP3、MAPK1、MAPK3、PTGS2 等关键靶点,进而阻断 IL-17 信号通路,发挥抗炎作用。TH7 细胞主要效应因子是 IL-17,研究结果显示逍遥丸活性成分可能通过作用于 STAT1、STAT3、MAPK1 等关键蛋白对 TH17 细胞分化信号通路产生影响,发挥治疗作用,其发挥作用过程可能与 IL-17 信号通路相同。通过上述分析可知,逍遥丸治疗乳腺增生过程中主要作用机制是抗炎,还有一部分免疫调节和减轻氧化应激反应作用。但是对于性激素的调节并没有表现出来,这提示我们虽然中药有多成分、多靶点的特点,

但是逍遥丸治疗乳腺增生过程中可能抗炎作用占比较大。

综上所述,逍遥丸中的槲皮素(quercetin)、山奈酚(kaempferol)、叶黄素(luteolin)可能通过 STAT3、AKT1、MAPK1、HTR2A、IL2、MMP1 等核心靶点和核心基因,对 TNF 信号通路、IL-17 信号通路、TH17 细胞分化等信号通路进行调节,来增强氧化应激能力、提高免疫力、抗炎、调控细胞凋亡等,发挥对乳腺增生的治疗作用。本研究表明逍遥丸可能通过多成分、多靶点、多通路抑制乳腺增生的发生、发展,为本课题组研究逍遥丸治疗妇科疾病提供依据和理论基础。

参考文献:

- [1] 管庆霞, 杨志平, 赵梦瑶, 等. 逍遥丸药理研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 27(7): 228-234.
- [2] 张小花, 申剑, 武权生, 等. 武权生教授周期疗法对乳腺增生病模型大鼠 ER、PR、ERK 的影响[J]. 西部中医药, 2018, 31(1): 13-16.
- [3] 房涛, 惠建荣. “通利枢机针法”结合逍遥丸治疗肝郁气滞型乳腺增生的临床研究[J]. 陕西中医药大学学报, 2019, 42(6): 96-99+104.
- [4] LI X, XIN P, WANG C, et al. Mechanisms of traditional Chinese medicine in the treatment of mammary gland hyperplasia[J]. Am J Chin Med, 2017, 45(3): 443-458.
- [5] 吕庆福, 陈琳, 过兆基, 等. 微创旋切术后给予乳癖散结胶囊治疗乳腺增生的临床观察[J]. 中国药房, 2018, 29(12): 1682-1684.
- [6] 苏炯强, 叶柏深. 逍遥散治疗乳腺增生病的临床疗效[J]. 内蒙古中医药, 2021, 40(1): 30-31.
- [7] 张鑫山, 盛勇, 卜晓莉, 等. 丹鹿胶囊联合大黄蛰虫丸治疗乳腺增生的临床效果观察[J]. 中外医学研究, 2020, 18(36): 11-13.
- [8] 周伊宁, 解红霞, 赵炳聪, 等. 中药治疗乳腺增生机制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(3): 141-144.
- [9] 刘琳, 邹俊波, 张小飞, 等. 基于网络药理学探讨逍遥丸治疗抑郁和焦虑的作用机制[J]. 海南医学院学报, 2020.
- [10] 杨萍, 鲁松, 刘萍, 等. 基于网络药理学考察逍遥丸对认知障碍可能作用机制[J]. 遵义医科大学学报, 2020, 43(2): 179-187.
- [11] 陈铭泰, 肖娇, 林海丹, 等. 基于网络药理学探讨逍遥散对动脉粥样硬化和抑郁症“异病同治”的作用机制[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(17): 4099-4111.
- [12] RU J, LI P, WANG J, et al. TCMSF: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines. Journal of cheminformatics 2014, 6: 13.
- [13] SAFRAN M, DALAH I, ALEXANDER J, et al. GeneCards Version 3: the human gene integrator. Database: the journal of biological databases and curation 2010, 2010: baq020.
- [14] Database resources of the National Center for Biotechnology Information. Nucleic Acids Res 2018, 46(D1): D8-d13.
- [15] AMBERGER J S, BOCCHINI C A, SCHIETTECATTE F, et al. OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an online catalog of human genes and genetic disorders. Nucleic Acids Res 2015, 43(Database issue): D789-798.
- [16] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, SU T Q, YE B S. Clinical effect of Xiaoyao powder on mammary gland hyperplasia[J]. Nei Mongol Journal of Traditional Chinese Medicine, 2021, 40(1): 30-31.

- supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res* 2019, 47(D1): D607- d613.
- [17] DONCHEVA N T, MORRIS J H, GORODKIN J, et al. Cytoscape stringApp: network analysis and visualization of proteomics data[J]. *Journal of proteome research* 2019, 18(2): 623-632.
- [18] SUN C, YUAN Q, WU D, et al. Identification of core genes and outcome in gastric cancer using bioinformatics analysis. *Oncotarget* 2017, 8(41): 70271-70280.
- [19] 赵文静, 汪建伟, 隋方宇, 等. 乳腺增生病与乳腺癌病因相关性研究[J]. *中医药学报*, 2015, 43(3): 28-30.
- ZHAO W J, WANG J W, SUI F Y, et al. Study on the correlation between breast hyperplasia and breast cancer etiology[J]. *Acta Chinese Medicine and Pharmacology*, 2015, 43(3): 28-30.
- [20] 陈佃红. 乳腺增生疾病研究进展[J]. *中医药学报*, 2019, 19(26): 112-114.
- CHEN D H. Research progress of breast hyperplasia disease[J]. *World Latest Medicine Information*, 2019, 19(26): 112-114.
- [21] 苏炯强, 叶柏深. 逍遥散治疗乳腺增生病的临床疗效[J]. *内蒙古中医药*, 2021, 40(1): 30-31.
- SU T Q, YE B S. Clinical effect of Xiaoyao powder on mammary gland hyperplasia[J]. *Nei Mongol Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 40(1): 30-31.
- [22] 方明, 康乐, 陈英杰, 等. Smoothed、STAT3 和 MMP-9 在三阴性乳腺癌中的表达及临床意义[J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(6): 821-824+830.
- FANG M, KANG L, CHEN Y J, et al. Expressions and clinical significances of SMO, STAT3 and MMP-9 in triple negative breast cancer[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2014, 30(6): 821-824+830.
- [23] MCAULIFFE P F, MERIC-BERNSTAM F, MILLS G B, et al. Deciphering the role of PI, K/Akt/mTOR pathway in breast cancer biology and pathogenesis[J]. *Clin Breast Cancer*, 2010, 10 (Suppl3): S59-S65.
- [24] 程海飞, 陈艳琳, 范绍辉, 等. MAPK 信号通路在急性肺损伤进程中的研究进展[J]. *医学综述*, 2020, 26(13): 2523-2528.
- CHEN H F, CHEN Y L, FAN Z H, et al. Research progress of MAPK signaling pathway in process of acute lung injury[J]. *Medical Recapitulate*, 2020, 26(13): 2523-2528.
- [25] FATA J E, MORI H, EWALD A J, et al. The MAPK (ERK-1, 2) pathway integrates distinct and antagonistic signals from TGF alpha and FGF7 in morphogenesis of mouse mammary epithelium [J]. *Developmental Biology*, 2010, 306(1): 193-207.
- [26] SMITH E R, KATHY Q I C, SMEDBERG J L, et al. Nuclear entry of activated MAPK is restricted in primary ovarian and mammary epithelial cells[J]. *PlosOne*, 2010, 5(2): e9295.
- [27] 王齐敏. MMP-1 在乳腺癌中表达的意义及其基因沉默对乳腺癌细胞生物学特性的影响[D]. 大连: 大连医科大学, 2018.
- WANG Q M. Significance of expression of MMP-1 in breast cancer and effect of gene silencing on biological characteristics of breast cancer cells[J]. *Journal of Dalian Medical University*, 2018.
- [28] 石博, 黄可心, 李天书, 等. 上皮性卵巢肿瘤患者血清及癌组织中 CD34、PCNA 蛋白的表达[J]. *中国妇幼保健*, 2014, 29(16): 2483-2485.
- SHU B, HUANG K X, LI T S, et al. Expressions of CD34 protein and PCNA protein in serum and cancerous tissue of patients with epithelial ovarian cancer[J]. *Maternal & Child Health Care of China*, 2014, 29(16): 2483-2485.
- [29] 蒋奕, 叶洪涛, 唐玮, 等. 乳腺癌组织 TOP2A 和 HER2/neu 扩增与临床病理因素相关性研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2017, 24(1): 30-33.
- JIANG Y, YE H T, TANG W, et al. Topoisomerase amplification and its correlation with HER2/neu in breast cancer patients[J]. *Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment*, 2017, 24(1): 30-33.
- [30] CHULPANOVA DARIA S, GILAZIEVA ZAREMA E, KLETUKHINA SEVINDZH K, et al. Cytochalasin B-Induced membrane vesicles from human mesenchymal stem cells overexpressing IL2 are able to stimulate CD8+T-Killers to kill human triple negative breast cancer cells[J]. *Biology*. 2021, 10(2): 141-141.
- [31] SEYED HESAM H, GHASEM A, ABDOLKHAEGH D. Alternative viewpoint against breast cancer based on Selective serotonin receptors 5HT_{3A} and 5HT_{2A} antagonists that can mediate apoptosis in MCF-7 cell line[J]. *Current Drug Discovery Technologies*. 2015, 12(4): 240-249.
- [32] 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, 5.
- YANG Y, WANG Y Y, JIANG Q C, et al. Research progress of pharmacological action of quercetin[J]. *Special Economic Animal and Plant*, 2020, 5.
- [33] 雷晓青, 陈鳌, 刘毅, 等. 山萘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.
- LEI X Q, CHEN A, LIU Y, et al. Research progress on pharmacological action of kaempferol[J]. *Studies of Trace Elements and Health*, 2017, 34(2): 61-62.
- [34] 兰芳, 何蓉蓉, 姚楠, 等. 叶黄素对小鼠葡萄膜炎氧化应激状态的改善作用[J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(9): 1257-1258.
- LAN F, HE R R, YAO N, et al. Improving effects of lutein on oxidative stress status in endotoxin-induced murine uveitis[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2010, 26(9): 1257-1258.
- [35] 余召辉, 赵宗仁, 李贺, 等. 叶黄素的药理作用[J]. *吉林医药学院学报*, 2017, 38(1): 58-60.
- YU Z H, ZHAO Z R, LI H, et al. Pharmacological action of lutein[J]. *Journal of jilin medical college*, 2017, 38(1): 58-60.
- [36] 周伊宁, 解红霞, 赵炳聪, 等. 中药治疗乳腺增生机制研究进展[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(3): 141-144.
- ZHOU Y N, JIE H X, ZHAO B C, et al. Research progress on mechanism of traditional Chinese medicine for mammary hyperplasia[J]. *Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine*, 2021, 28(3): 141-144.

- [37] SONG N, ZHAO Z, MA X, et al. Naringin promotes fracture healing through stimulation of angiogenesis by regulating the VEGF/VEGFR-2 signaling pathway in osteoporotic rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 261: 11-17.
- [38] 陈德焱. 基于网络药理学探讨柚皮苷的药理作用机制[J]. *中国当代医药*, 2021, 28(2): 12-17.
CHEN D Y. Exploration on the functional mechanism of naringin based on network pharmacology[J]. *China Modern Medicine*, 2021, 28(2): 12-17.
- [39] 杨林伟, 宋新波, 张丽娟, 等. 甘草查尔酮 A 制备方法及药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2013, 15(11): 85-87.
YANG L W, SONG X B, ZHANG L J, et al. Research progress on preparation methods and pharmacological action of chalconone A from licorice[J]. *Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 15(11): 85-87.
- [40] 轩云. “痰瘀同治”干预糖尿病大鼠心肌 AGEs-RAGE 轴所致病变的作用机理研究[D]. 安徽: 安徽中医药大学, 2020.
- XUAN Y. Study on the mechanism of “phlegm and stasis combined treatment” intervening cardiac lesions caused by AGE-RAGE axis in diabetic rats[J]. *Anhui University of Chinese Medicine*, 2020.
- [41] 郭梦尧. 黄芩苷对小鼠金黄色葡萄球菌性乳腺炎的作用及机制研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2014.
GUO M Y. Effect and mechanism of baicalin on *Staphylococcus aureus* mastitis in mice[J]. *Jilin university*, 2014.
- [42] 王静静, 宋昕阳, 钱友存. 白介素-17 家族细胞因子的研究进展[J]. *生命科学*, 2016, 28(2): 171-181.
WANG J J, SONG X Y, QIAN Y C, et al. Research advances in IL-17 cytokine family[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2016, 28(2): 171-181. ㊞
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。