

四逆散干预焦虑症作用机制的网络药理学分析

侯磊^{1,2}, 李晓宇², 黄娜娜¹, 吴成胜⁴, 齐晓甜³, 刘闰平⁵, 孙蓉^{1,3*}

1. 山东大学第二医院, 山东 济南 250033

2. 山东中医药大学, 山东 济南 250355

3. 山东大学高等医学研究院, 山东 济南 250012

4. 泰山医学院附属医院, 山东 泰安 271000

5. 北京中医药大学, 北京 100029

摘要:目的 探讨四逆散干预焦虑症的药效作用网络及药效作用机制。方法 运用网络药理学方法, 多个数据库联合分析四逆散和焦虑症的作用靶点, 通过 Cytoscape 筛选靶点并对其基因功能和信号通路进行分析, 运用 BioGPS 数据库对所得靶点进行器官定位。结果 分析结果表明槲皮素、山柰酚、芍药苷等成分作用于 SRC、EGFR、PIK3R1 等靶点, 通过 ERBB2 信号通路、EGFRvIII 信号通路、VEGFA-VEGFR2 信号通路等共同发挥作用, 器官定位结果表明作用的核心病位为肝。结论 四逆散干预焦虑症体现了中药多成分、多靶点、多通路的作用特点。

关键词: 四逆散; 焦虑症; 网络药理学; 槲皮素; 山柰酚; 芍药苷

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)21-5154-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.21.004

Internet pharmacology analysis of mechanism of Sini Powder in intervening anxiety disorder

HOU Lei^{1,2}, LI Xiao-yu², HUANG Na-na¹, WU Cheng-sheng⁴, QI Xiao-tian³, LIU Run-ping⁵, SUN Rong^{1,3}

1. The Second Hospital of Shandong University, Jinan 250033, China

2. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

3. Institute of Advanced Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

4. Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Taian 271000, China

5. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To explore the efficacy network and pharmacodynamic mechanism of Sini Powder in the intervention of anxiety disorders. **Methods** Using the method of network pharmacology, multiple databases were used to analyze the targets of Sini Powder and anxiety disorders. Cytoscape was used to screen targets and analyze their gene functions and signaling pathways. BioGPS database was used to locate the target organs. **Results** The results showed that quercetin, kaempferol, and paeoniflorin acted on SRC, EGFR, PIK3R1, and other targets, through ERBB2 signaling pathway, EGFRvIII signaling pathway, and VEGFA-VEGFR2 signaling pathway. The results of organ localization showed that the core disease site was liver. **Conclusion** By predicting the possible mechanism of Sini Powder in the intervention of anxiety disorder, this study reflects the characteristics of Chinese medicine in the multi-component, multi-target, and multi-channel role, which provides a scientific basis for further elucidating the mechanism of Sini Powder in the intervention of anxiety disorder.

Key words: Sini Powder; anxiety disorder; network pharmacology; quercetin; kaempferol; paeoniflorin

焦虑症是一种常见的精神障碍性疾病, 人群患病率 1.9%~5.1%, 临床表现为过分的焦虑、担忧及害怕, 伴有植物神经症状和运动性不安^[1]。焦虑症

为西医病名, 归属于中医“郁证”“不寐”“惊悸”“怔忡”“脏躁”的范畴^[2]。化学药抗焦虑疗效确切, 却存在药物导致的胃肠反应、躯体依赖、焦虑反跳、

收稿日期: 2019-03-11

基金项目: 山东省重点研发计划(重大关键技术)项目(2016ZDJS07A21); 山东省重点研发计划项目(2017CXGC1301); 山东省重点研发计划项目(2016GSF202039); 国家自然科学基金面上项目(81773997); 泰山学者工程专项经费资助(ts201511107)

作者简介: 侯磊, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理与毒理。Tel: 13356742915 E-mail: houlei1211@163.com

*通信作者 孙蓉, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药理与毒理研究。Tel: 13605311799 E-mail: sunrong107@163.com

性功能障碍等问题^[3], 长期大量服用易产生耐药性和成瘾性, 停药易复发。近年来, 中医药治疗焦虑症的研究报道逐渐增多, 其疗效显著, 明显降低了药物的副作用。研究表明, 肝为焦虑症发病的核心病位, 以疏肝为主要功效的柴胡类经方对焦虑症具有较好的临床疗效^[4]。四逆散是古今医家常用的柴胡类经方, 始见于汉代张仲景的《伤寒论》, 由柴胡、芍药、枳实、甘草组成。方中君药柴胡疏肝之阳,

臣药芍药泄肝之阴, 佐药枳实行气散结, 使药甘草和中缓急, 4 药配伍精干练达, 具有透邪解郁、疏肝理气的功效^[5]。近年来四逆散在神经系统方面的研究逐渐深入, 对焦虑症具有一定的缓解作用^[6-7], 但缺乏其活性成分、作用靶点及通路的研究。由此, 本研究运用网络药理学方法挖掘四逆散干预焦虑症的主要成分、关键靶点和信号通路, 探讨其功效作用网络及药效作用机制, 流程图见图 1。

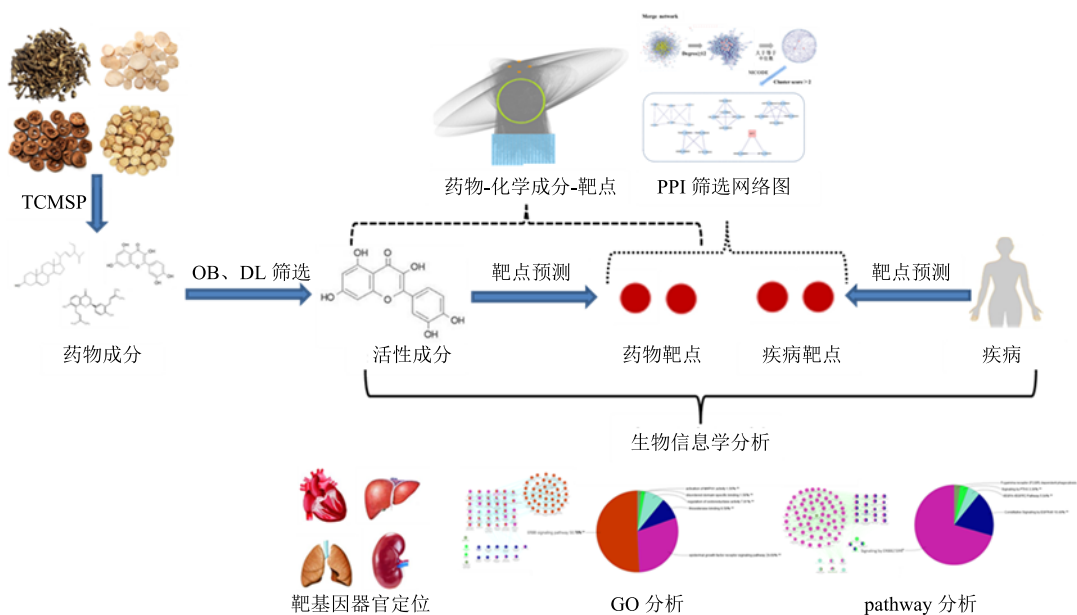


图 1 四逆散干预焦虑症的网络药理学分析流程图

Fig. 1 Network pharmacological analysis flow chart of Sini Powder intervention for anxiety disorder

1 材料与方法

1.1 四逆散化学成分收集和筛选

在 TCMSP 平台中药材数据库对四逆散所含中药材柴胡、白芍、枳实和甘草进行化学成分信息收集, 以口服生物利用度 (OB) $\geq 30\%$ 和类药性 (DL) ≥ 0.18 作为活性成分的筛选标准^[8]。另结合文献对未纳入筛选标准, 但报道有生物活性和药理作用的也纳入候选活性成分。

1.2 潜在作用靶点预测

使用 TCMSP 数据库进行化合物的蛋白靶点预测, 并利用 UniProt 数据库中 UniProKBt 的检索功能, 通过输入蛋白名称并限定物种为人, 并将所有靶基因名称校正为官方名称 (official gene symbol), 剔除没有靶点的活性成分。获得活性成分与相关靶点信息。

1.3 焦虑症靶点预测

依据 Pubmed 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) 和 CTD 数据库 (<http://ctdbase.org/>), 以关键词 “anxiety disorder” 对其相关靶点进行检索及筛选。并参考诊疗指南及文献归纳治疗焦虑症的一线药物, 结合 Drugbank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>) 收集靶点。去除重复基因, 归纳总结干预焦虑症的潜在靶点。

nlm.nih.gov/pubmed) 和 CTD 数据库 (<http://ctdbase.org/>), 以关键词 “anxiety disorder” 对其相关靶点进行检索及筛选。并参考诊疗指南及文献归纳治疗焦虑症的一线药物, 结合 Drugbank 数据库 (<https://www.drugbank.ca/>) 收集靶点。去除重复基因, 归纳总结干预焦虑症的潜在靶点。

1.4 网络构建和分析

采用 Cytoscape 3.6.1 中插件 Biso Genet 对化合物潜在靶点及疾病靶点进行蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建, 并采用软件中的关联功能 (Merge) 对已绘制好的 2 个网络图融合并抽取交集网络, 即得到四逆散干预焦虑症直接和间接靶点调控网络图。采用 Cytoscape 中的插件 CytoNCA 分析节点连接度 (degree)、介度 (betweenness)、紧密度 (closeness)、特征向量 (eigenvector)、局部平均连通度 (LAC)、网络 (network) 的参数进行筛选, 以度值 ≥ 2 倍中

位数为筛选条件,选取四逆散靶点-疾病蛋白互作网络的节点;以度值 $\geq$ 中位数、介度和紧密度等均大于等于其中位数为条件^[9],选取四逆散干预焦虑症的候选靶点。并通过 MCODE 插件进行模块分析^[10],其中节点的 score 值反映该节点及周边节点的密集程度,选取 score >2 , K-Core 设置为 2 的网络图对其特征进行分析。结合 2 种分析功能得到共有靶点进行分析。

1.5 生物过程和通路富集分析

为说明四逆散中活性成分的潜在作用靶点干预焦虑症在基因功能和信号通路中的作用,本研究采用 Cytoscape 中的插件 ClueGO 进行分析,设定阈值 $P \leq 0.05$,通过基因的富集分析预测四逆散干预焦虑症的可能机制。

1.6 器官定位分析

通过 BioGps 数据库对靶点进行器官定位分析,将靶点进行搜索,然后对各靶点的信息进行统计,得出不同器官所对应的靶点,最后对结果进行整理,并绘图表示。

1.7 四逆散治疗焦虑症临床应用现状

以“四逆散”“郁证”“不寐”“anxiety disorder”等为关键检索中国知网、万方、PubMed 等国内外数据库收录的四逆散治疗焦虑症临床应用现状,并进行分析。

2 结果与分析

2.1 四逆散化学成分的筛选

根据 TCMSP 数据库收集到四逆散共含有 679 个活性成分,其中柴胡有 249 个活性成分,白芍有 85 个活性成分,枳实有 65 个活性成分,甘草有 280 个活性成分。对检索到的各中药化学成分 OB 和 DL 指标进行筛选,并通过文献检索对候选活性成分进行补充,将没有入选但文献报道具有药理作用的化学成分纳入候选活性成分。柴胡皂苷 a、d 未纳入筛选标准,但这些成分在药材中含量较高或研究显示其具有明显的药理作用,因此被纳入潜在活性化合物^[11],白芍中的羟基芍药苷^[12]、甘草中的异甘草素和甘草酸也被作为潜在活性化合物^[13]。分析共得到 111 个活性成分,333 个靶点,其中柴胡成分 17 个,主要包括柴胡皂苷、槲皮素、异鼠李素、山柰酚等;白芍成分 10 个,主要包括芍药苷、芍药内酯苷等;枳实成分 13 个,包括橙皮苷和柚皮素;甘草成分 71 个,主要包括甘草苷、异甘草苷、甘草素、甘草查耳酮等。将上述活性成分的靶点通过数据库转化为基因名,构建中药-活性成分-预测靶点网络(图 2),根据度值筛选活性成分,度值排前 10 位的代表性成分见表 1。已有研究报道,槲皮素^[14]、山柰酚^[15]等对焦虑症有一定的缓解作用。

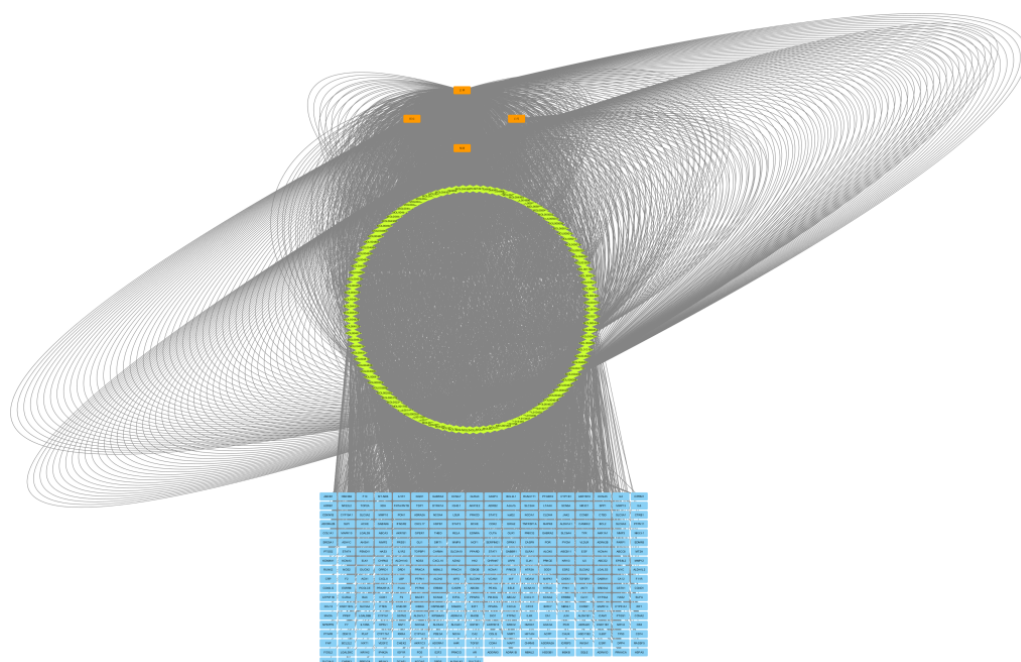


图 2 四逆散中药-活性成分-预测靶点网络

Fig. 2 Network of Chinese medicine-active ingredients-prediction target of Sini Powder

表 1 四逆散代表性成分信息

Table 1 Representative component information of Sini Powder

化合物	度值	OB/%	DL	药材归属
槲皮素	604	46.43	0.28	柴胡、甘草
山柰酚	372	41.88	0.24	柴胡、白芍、甘草
异鼠李素	144	49.60	0.31	柴胡、甘草
7-甲氧基-2-甲基异黄酮	86	42.56	0.20	甘草
芒柄花素	76	69.67	0.21	甘草
光甘草定	72	53.25	0.47	甘草
美迪紫檀素	68	49.22	0.34	甘草
甘草查耳酮 A	64	40.79	0.29	甘草
豆甾醇	62	43.83	0.76	柴胡
异橙黄酮	62	51.15	0.44	枳实

2.2 焦虑症靶点检索分析

以关键词“anxiety disorder”对相关靶点进行检索及筛选，并结合文献研究。去重后共获得与焦虑症密切相关的靶点基因 286 个，其中 CTD、PubMed 和 Drugbank 分别检索到 37、41、208 个。

2.3 药物-靶点-疾病相互作用网络构建与分析

通过 BisoGenet 对四逆散活性成分的作用靶点进行 PPI 网络构建，得到直接或间接作用靶点共 3 272 个，靶点与靶点之间的相互关系达 19 293

条。对焦虑症相关靶点构建 PPI 网络，得到直接或间接作用靶点共 2 110 个，靶点与靶点之间的相互关系达 11 273 条。

通过 Cytoscape 对上述构建的 2 个 PPI 网络图中的交集靶点进行关联分析得到 1 114 个靶点，相互关系达 5 375 条。采用 CytoNCA 插件对网络进行分析，连接靶点较多的节点可能为关键靶点。通过度值、介度和紧密度等参数筛选四逆散干预焦虑症的靶点，计算得到度值中位数为 6，故以度值 ≥ 12 为筛选条件，选取四逆散靶点-疾病蛋白互作网络的节点；以度值 ≥ 18 、介度 ≥ 3 555.98、紧密度 ≥ 0.02 、特征向量 ≥ 0.04 、LAC ≥ 2.25 、网络 ≥ 3.73 ，选取四逆散干预焦虑症的候选靶点。同时采用 MCODE 算法进行模块化分析，将 K-Core 设置为 2，结果显示 score > 2 的模块根据打分的排序聚成 5 类，分析得到 SRC、EGFR、PIK3R1 等 22 个基因，筛选结果见图 3。有研究显示，调节 NMDAR 酪氨酸磷酸化的主要酪氨酸激酶是 Src，其增强 NMDAR 通道活性，动物实验发现拮抗 NMDAR 可引起啮齿类动物的抗焦虑效应^[16]。研究表明，PIK3R1 基因的生物相关性支持其在焦虑性格中的作用^[17]。

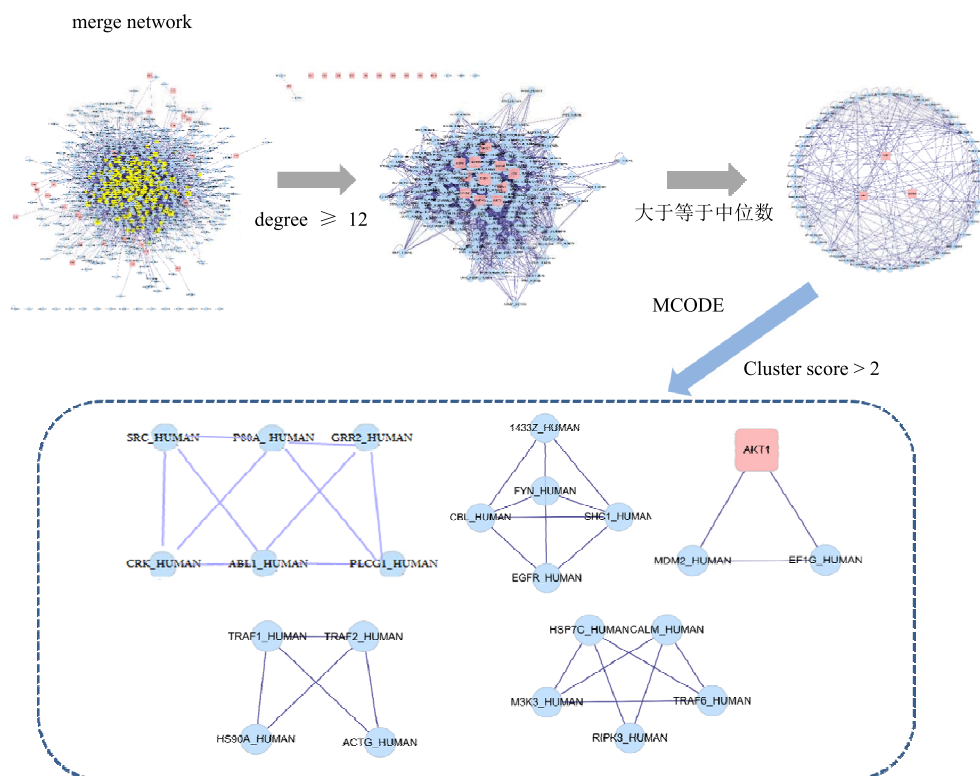


图 3 PPI 筛选网络图

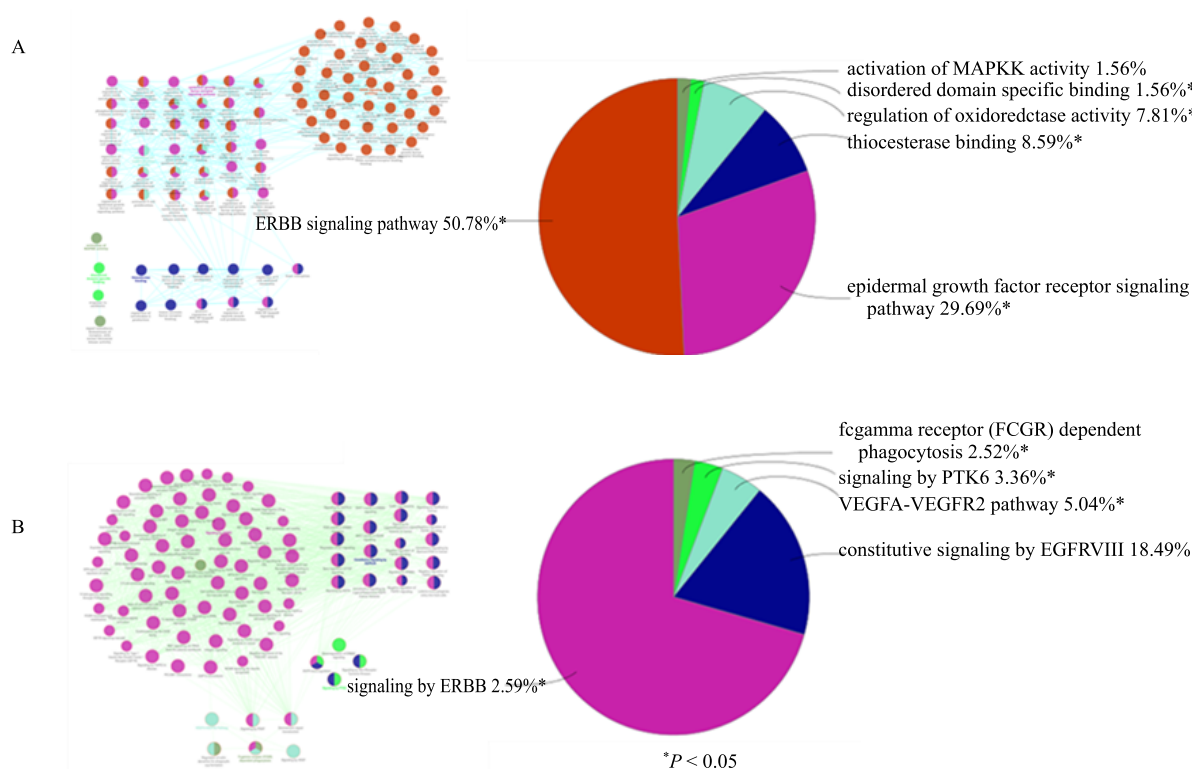
Fig. 3 PPI screening network diagram

2.4 生物过程和通路富集分析

将四逆散干预焦虑症的 22 个潜在作用靶点通过 Cytoscape 中的插件 ClueGO 进行功能分析, 结果见图 4。GO 分析包括生物过程、细胞组成和分子功能。靶点生物过程富集结果见图 4-A, GO 分析功能显示, 四逆散干预焦虑症的作用机制可能与 ERBB 信号通路的调控 (9 个靶点)、表皮生长因子受体 (EGFR) 信号通路 (5 个靶点)、硫酯酶结合 (5 个靶点)、氧化还原酶活性的调节 (3 个靶点)、无序结构特异性结合 (3 个靶点)、MAPKK 活性的激活 (5 个靶点) 等生物过程有关, 研究表明四逆散可通过调节多个生物

过程干预焦虑症。研究表明四逆散可通过调节多个生物过程干预焦虑症。有研究报道, MAPKK 是 MAPK 信号转导通路的重要部分, 激活 MAPKK 参与信号通路活化达到抗焦虑的作用^[18]。

通过 Cytoscape 中插件 ClueGO 进行通路分析, 结果见图 4-B。靶点参与的主要通路有 ErbB2 信号通路 (9 个靶点)、EGFRvIII 信号通路 (7 个靶点)、VEGFA-VEGFR2 信号通路 (8 个靶点)、PTK6 信号通路 (4 个靶点)、FCGR 受体依赖性信号通路 (9 个靶点) 等, 靶点通路富集情况见表 2。表明四逆散活性成分靶点分布于不同的通路, 可通过各通路协调发挥作用。



A-四逆散干预焦虑症靶点 GO 富集分析 B-四逆散干预焦虑症靶点 pathway 富集分析
A-analysis of GO enrichment of Sinisan in anxiety disorder B-pathway analysis of Sinisan interventions in anxiety disorders

图 4 四逆散干预焦虑症的靶点富集分析

Fig. 4 Target enrichment analysis of Sini Powder in treatment of anxiety disorder

表 2 靶点通路富集结果

Table 2 Enrichment of target pathways

编号	通路	基因
1	signaling by ERBB2	AKT1、EGFR、FYN、GRB2、HSP90AA1、PIK3R1、PLCG1、SHC1、SRC
2	constitutive signaling by EGFRvIII	CBL、EGFR、GRB2、HSP90AA1、PIK3R1、PLCG1、SHC1
3	VEGFA-VEGFR2 pathway	ACTG1、AKT1、CRK、FYN、HSP90AA1、PIK3R1、PLCG1、SRC
4	signaling by PTK6	AKT1、CBL、CRK、EGFR
5	fcgamma receptor (FCGR) dependent phagocytosis	ABL1、ACTG1、CRK、FYN、GRB2、HSP90AA1、PIK3R1、PLCG1、SRC

2.5 中医五脏与西医器官对应分析

中医认为人体是一个整体，心、肝、脾、肺、肾五脏协同作用，共同维持机体正常运行。为明确四逆散发挥功效与器官之间的关系，本研究将所有靶点导入 BioGPS 数据库中进行器官定位，结果见图 5。由图可见，各器官类型分别为心、肝、肺、肾及其他器官，不同颜色表示对应不同的器官。其中 13 个靶点作用于肝，12 个靶点作用于心，8 个靶点作用于肺，

5 个靶点作用于肾，8 个靶点作用于其他器官。此外，对应至肝上的 10 个靶点在心上均有分布。这印证了中医理论中的整体观，即人体为一个统一的、互相关联的整体，内部之间各个脏器互相联系。根据器官定位的结果，定位至肝的数量最多，心次之。结合文献分析和临床表征^[19-20]，归纳焦虑症的主要中医证型为肝气郁结证和肝郁化火证，肝为发病的核心病位，心次之，该研究结果与中医理论相符。

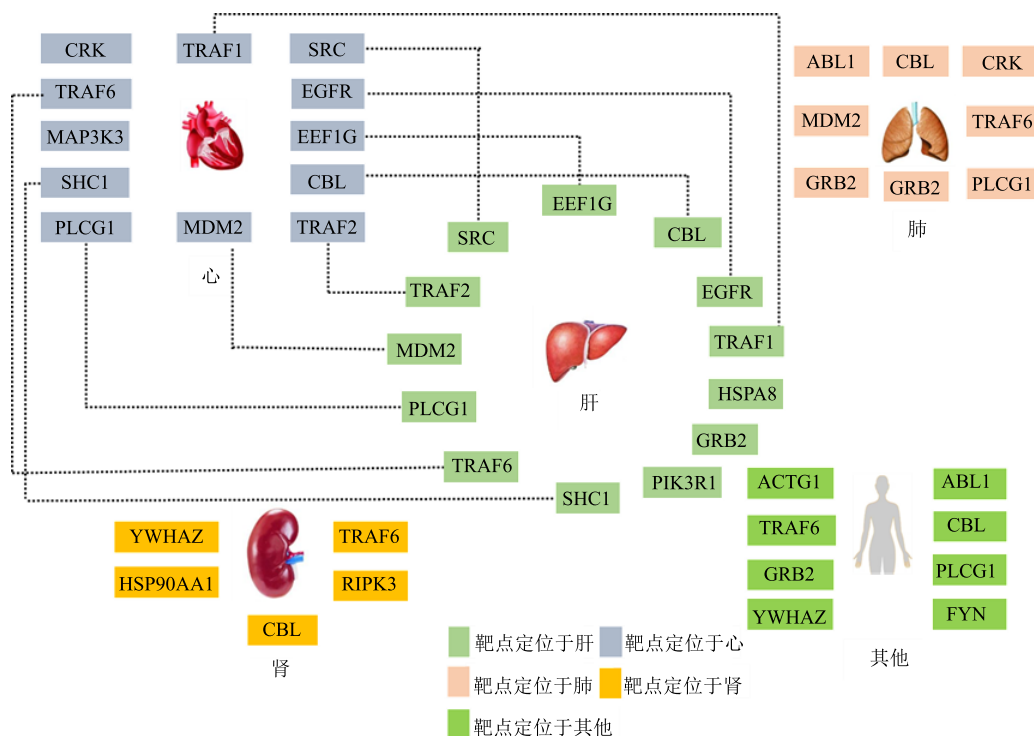


图 5 四逆散干预焦虑症的相关基因靶器官定位

Fig. 5 Location map of related gene target organs in Sini Powder intervention of anxiety disorder

2.6 四逆散治疗焦虑症临床效应与机制探讨

焦虑症属于中医“郁证”“不寐”“惊悸”等范畴^[21]，目前中医临床证型有 14 个^[2]，主要有肝气郁结、气郁化火、肝阴亏虚、血行郁滞等。其共性证候为情绪不宁、烦躁易怒、失眠。在临床治疗焦虑症的方剂中柴胡-白芍-甘草是常见的药物配伍^[22]，甘草、柴胡、白芍、枳实在治疗焦虑症所用的 133 味中药的频次排名中分别为第 1、4、6、34 位^[23]。临床研究表明以四逆散为基础方进行临床辨证加减治疗不寐的效果显著，对比化学药组疗效明显^[24-26]；四逆散加减方对郁证的有效率为 71.2%~86.7%^[27-28]。现代药理研究显示四逆散明显延长小鼠睡眠时间，相比化学药不良反应较少^[6-9]；四逆散加减方对郁症模型大鼠效果显著^[29-30]。归纳四逆散

干预焦虑症思维导图，见图 6。

3 讨论

四逆散由柴胡、芍药、枳实、甘草 4 味中药组成，具有透邪解郁、疏肝理气的功效。本研究表明四逆散干预焦虑症与 111 个主要化学成分相关，君药柴胡中槲皮素、山柰酚等有明显的抗焦虑作用，其机制与提高小鼠脑内 γ -氨基丁酸 (GABA)、谷氨酸 (Glu) 含量有关；臣药芍药中芍药苷能降低血虚肝郁证模型大鼠环核苷酸 (cGMP) 含量，可以改善大鼠的抑郁、焦虑与学习记忆障碍等^[31]；佐药枳实中橙皮苷是抗焦虑活性成分之一^[32]。槲皮素、山柰酚、异鼠李素、柚皮素等黄酮类成分可通过多种受体和信号通路对中枢神经系统发挥作用，有抗抑郁、抗焦虑、中枢神经抑制、治疗精神分裂、保护神经系统、

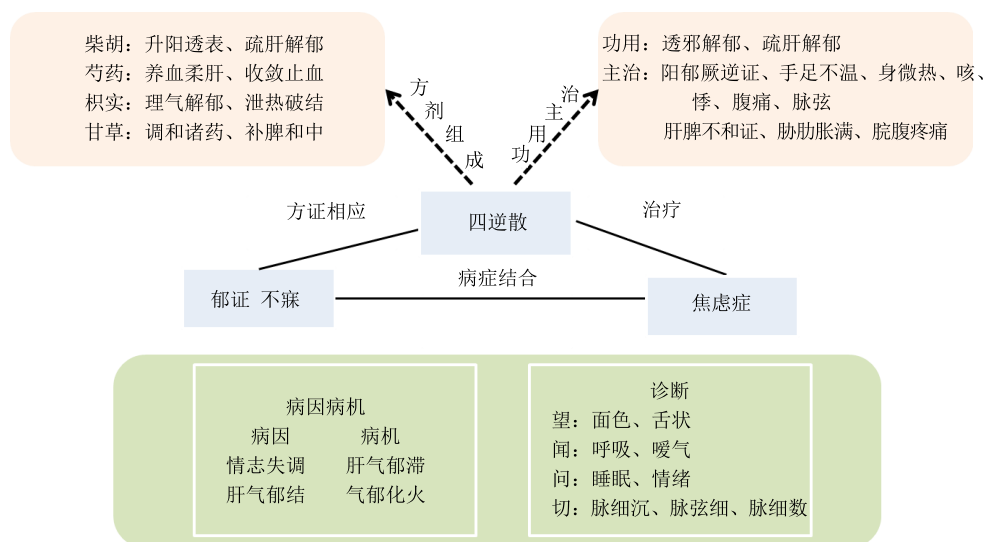


图 6 四逆散干预焦虑症思维导图

Fig. 6 Mind mapping of intervention of anxiety disorders by Sini Powder

改善记忆力和影响神经内分泌等多方面的作用^[33-34],可能是由于增强脑源性神经营养因子(BDNF)的作用,通过谷氨酸增强突触强度和神经元可塑性而发挥作用^[35],预测结果与报道基本一致。

四逆散干预焦虑症靶点的生物学过程富集分析结果表明,靶点关联的生物过程主要涉及 ERBB 信号通路的调控、MAPKK 活性的激活等。四逆散干预焦虑症靶点的通路富集分析结果表明,靶点参与的通路主要涉及 ERBB2 信号通路、EGFRvIII 信号通路、VEGFA-VEGFR2 信号通路、PTK6 信号转导、FCGR 受体依赖性吞噬作用。有研究表明,ERBB2 是功能性神经调节蛋白受体之一^[36],诱导 GABA 传递以及神经营养作用,焦虑症的发病机制可能与 GABA 有关^[37],ERBB 受体缺失杂合子的小鼠表现出一些与“精神分裂症”相关的行为,如多动、社交行为不良、焦虑、记忆缺陷等^[38];EGFR 家族由 ERBB1/EGFR、ERBB2、ERBB3 和 ERBB4 组成^[39],EGFR 被配体结合激活,其诱导受体二聚化和内源性受体酪氨酸激酶(RTK)活性的刺激,这些 RTK 复合物可以激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和 PI3K/Akt 途径^[40],PI3K/Akt 途径促进神经干细胞分化,干预神经系统疾病^[41];缺血后适应治疗可以通过上调 VEGF 因子水平缓解局部缺血损伤情况,通过 VEGFA-VEGFR2 通路,同时可能改善脑部微循环与脑代谢异常,从而缓解焦虑、抑郁等情况^[42]。

综上所述,以中医药理论为指导,以临床疗效为基础,通过逆向转化医学模式并结合网络药理学

预测四逆散干预焦虑的机制,可能与 ERBB2 信号通路、EGFRvIII 信号通路、VEGFA-VEGFR2 信号通路介导的疗效相关。但 PTK6 信号转导、FCGR 受体依赖性吞噬作用对焦虑症等神经系统的作用鲜有文献报道,后续需进行实验研究。因目前的研究尚存在药味组成、成分含量、相互作用以及体内代谢过程等因素的影响,将进一步开展四逆散治疗焦虑症功效物质基础和药效作用机制的研究,以提高临床用药的合理性和科学性。

参考文献

- [1] 郝伟. 精神病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- [2] 周仲瑛. 中医内科学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007.
- [3] Shergill S S, Atona Cle. *Pharmacotherapy of Affective Disorders* [M]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2001.
- [4] 王凯丽, 闫西鹏, 赵颖颖, 等. 中医治疗焦虑抑郁症概况 [J]. 实用中医内科杂志, 2016, 30(9): 113-116.
- [5] 段富津. 方剂学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995.
- [6] 李越峰, 边甜甜, 牛江涛, 等. 四逆散对创伤后应激障碍大鼠海马神经元信号强度的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(7): 824-826.
- [7] 李越峰, 苏云明, 李廷利. 四逆散镇静催眠作用的物质基础初步研究 [J]. 中草药, 2012, 3(7): 1361-1365.
- [8] 张潇, 高耀, 向欢, 等. 基于网络药理学的交泰丸治疗抑郁症作用机制研究 [J]. 中草药, 2017, 48(8): 1584-1590.
- [9] 何汉青, 李宁. 基于云计算的 MCU 应用开发平台 [J]. 武汉理工大学学报: 信息与管理工程版, 2011, 33(4): 544-547.
- [10] Wang J, Zhong J, Chen G, et al. Cluster Viz: A cytoscape APP for cluster analysis of biological network [J].

- IEEE/ACM Trans Comput Biol Bioinform, 2015, 12(4): 815-820.
- [11] Li X J, Ma Q Y, Jiang Y M, *et al.* Xiaoyaosan exerts anxiolytic-like effects by down-regulating the TNF- α /JAK2-STAT3 pathway in the rat hippocampus [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-00496-y.
- [12] 杨丽梅, 岳广欣. 白芍总苷及其神经精神药理作用研究概况 [J]. 河北中医, 2017, 39(4): 614-618.
- [13] 李 蓐, 高 杉, 于春泉. 柴胡和白芍配伍抗抑郁作用的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 313-316.
- [14] 聂忠富. 槐米中槲皮素对焦虑模型小鼠的保护作用研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(31): 2905-2907.
- [15] Park S H, Sim Y B, Han P L, *et al.* Antidepressant-like effect of kaempferol and quercitrin, isolated from *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* [J]. *Exp Neurobiol*, 2010, 19(1): 30-38.
- [16] 赵瑞珍, 李 宁, 李冬梅. 焦虑障碍中医药干预机理研究 [J]. 北京中医药大学学报: 中医临床版, 2012, 19(2): 9-12.
- [17] Alisch R S, Chopra P, Fox A S, *et al.* Differentially methylated plasticity genes in the amygdala of young primates are linked to anxious temperament, an at risk phenotype for anxiety and depressive disorders [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(47): 15548-15556.
- [18] 金钟晔. 逍遥散对慢性束缚应激肝郁脾虚证焦虑模型大鼠下丘脑 P38MAPK 信号通路的影响 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [19] 曲 淼, 高亚斌, 高 利. 广泛性焦虑症患者述情障碍表现与中医证候相关性研究 [J]. 北京中医药, 2018, 37(2): 125-127.
- [20] 耿 东. 基于现代文献及临床调研的广泛性焦虑中医证候及证候要素研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [21] 杨春霞. 焦虑症的中医证候及多元分析初步研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2004.
- [22] 唐启盛, 孙文军, 曲 淼, 等. 基于关联规则的焦虑症中药配伍规律 [J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(7): 1941-1946.
- [23] 万 飞. 基于关联规则的广泛性焦虑症中医用药规律研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- [24] 武晓磊, 冯学功, 郝文杰. 四逆散加味治疗 67 例失眠症患者的临床观察 [J]. 中国医药指南, 2018, 16(10): 208-209.
- [25] 蒲应炎, 潘晓微, 潘奔前. 四逆散加味配合耳穴治疗不寐 83 例疗效观察 [J]. 中医药临床杂志, 2016, 28(8): 1179-1180.
- [26] 王振兴. 四逆散加减方治疗肝郁脾虚型失眠症的临床观察 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.
- [27] 居跃君, 许 红. 解郁方治疗焦虑症的临床观察 [J]. 上海中医药杂志, 2003, 37(8): 11-12.
- [28] 高新立. 中西医结合治疗广泛性焦虑障碍 60 例 [J]. 中医研究, 2012, 25(9): 18-19.
- [29] 王玉露, 贾 铷, 陈 燕. 解郁散对大鼠郁证模型行为学影响 [J]. 中医学报, 2010, 25(5): 901-902, 907.
- [30] 齐明月. 基于肝郁大鼠模型对“见肝之病, 知肝传脾, 当先实脾”的客观证据研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [31] 朱映黎, 张建军, 王景霞, 等. 芍药苷对血虚肝郁证模型大鼠海马 cGMP 含量及其合成与水解酶的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(3): 818-820.
- [32] Ito A, Shin N, Tsuchida T, *et al.* Antianxiety-like effects of chimp (dried citrus peels) in the elevated open-platform test [J]. *Molecules*, 2013, 18(8): 10014-10023.
- [33] 吕跃玮, 郭建友, 刘 勇, 等. 天然黄酮类单体化合物抗焦虑作用研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(1): 38-44.
- [34] 刘志强, 王 伟, 徐丽君. 黄酮类化合物改善记忆的机制研究进展 [J]. 实用医学杂志, 2014, 30(9): 1505-1507.
- [35] Hou Y, Aboukhatwa M A, Lei D L, *et al.* Anti-depressant natural flavonols modulate BDNF and beta amyloid in neurons and hippocampus of double TgAD mice [J]. *Neuropharmacology*, 2010, 58(6): 911-920.
- [36] Barrosa C S, Calabrese B, *et al.* Impaired maturation of dendritic spines without disorganization of cortical cell layers in mice lacking NRG1/ErbB signaling in the central nervous system [J]. *PNAS*, 2009, 106(11): 4507-4512.
- [37] 张紫娟, 郭美霞, 邢 莹. ERK 激活对 SDF-1 引起的大鼠海马神经元 GABA 分泌抑制的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2015, 31(5): 443-447.
- [38] Desbonnet L, Waddington J L O, Tuathaigh C M. Mutant models for genes associated with schizophrenia [J]. *Biochem Soc Trans*, 2009, 37(1): 308-312.
- [39] Olayioye M A, Neve R M, Lane H A, *et al.* The ErbB signaling network: Receptor heterodimerization in development and cancer [J]. *EMBO*, 2000, 19(13): 3159-3167.
- [40] Yarden Y, Sliwkowski. MX Untangling the ErbB signalling network [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2(2): 127-137.
- [41] Sung S, Jung D, Kwon C, *et al.* Hypoxia/reoxygenation stimulates proliferation through PKC-dependent activation of ERK and Akt in mouse neural progenitor cells [J]. *Neurochem Res*, 2007, 32(11): 1932-1939.
- [42] 徐崇利. 胸痹伴发焦虑抑郁相关因素分析及益心舒胶囊联合干预的系统评价 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.