

正源方干预化疗后白细胞减少症的网络药理学研究及实验验证

张君威, 唐志书*, 刘妍如*, 宋忠兴, 周 瑞, 潘亚磊, 刘红波, 史鑫波, 张玉茹, 赵梦利

陕西中医药大学 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 陕西省创新药物研究中心, 陕西省中药产业研究院, 陕西 咸阳 712083

摘要: **目的** 根据正源方具有缓解化疗后患者白细胞降低的药理作用, 分析正源方的化学成分, 并进行网络药理学研究和动物实验验证。**方法** 使用 UPLC-TOF/MS 技术检测正源方的主要化学成分, 在数据库中检索主要化学成分作用靶点和白细胞减少症相关靶点, 用韦恩图得到交集靶点。运用 Cytoscape 3.7.2 软件构建交集靶点的蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图和“中药-成分-靶点”网络图, 筛选出度值高的关键成分和靶点。将交集靶点上传 R 软件进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析。将 SD 雄性大鼠随机分为空白组、模型组、阳性药组 [地榆升白片 0.11 g/(kg·d)]、正源方高剂量组 [2.73 g/(kg·d)]、中剂量组 [1.37 g/(kg·d)]、低剂量组 [0.68 g/(kg·d)], 除空白组外, 各组大鼠 ip 环磷酰胺 [40 mg/(kg·d)] 4 d 诱导白细胞减少症大鼠模型, 测定白细胞数、脏器指数, ELISA 试剂盒检测肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的含量。**结果** 使用 UPLC-TOF/MS 技术共测得 24 个化学成分。网络药理学结果显示, 正源方的活性成分作用于 377 个靶点, 检索到疾病相关靶点 1952 个, 交集靶点 124 个。筛选得出人参皂苷 Rg₁、阿魏酸、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₂、人参皂苷 Ro、山柰酚等核心成分; TNF 和 IL-6 等共 20 个重要靶点, 富集到的关键通路有 IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway) 等。动物实验验证结果显示, 与模型组相比, 正源方高、中剂量给药组的大鼠白细胞计数和胸腺指数显著升高, 血清中 TNF- α 、IL-6 水平显著降低 ($P < 0.05$), 能够减轻白细胞减少症大鼠脾脏和胸腺组织的病理损伤。**结论** 正源方治疗白细胞减少症的物质基础是以人参皂苷为主的化学成分, 相关作用机制具有多靶点、多通路的特点。

关键词: 正源方; 环磷酰胺; 骨髓抑制; 白细胞减少症模型; 西洋参; 网络药理学

中图分类号: R283.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)21-6586-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.21.017

Network pharmacology study on Zhengyuan Prescription's intervention in leukopenia after chemotherapy and experimental verification

ZHANG Jun-wei, TANG Zhi-shu, LIU Yan-ru, SONG Zhong-xing, ZHOU Rui, PAN Ya-lei, LIU Hong-bo, SHI Xin-bo, ZHANG Yu-ru, ZHAO Meng-li

Shaanxi Institute of Traditional Chinese Medicine Industry, Shaanxi Research Center of Innovative Drug, Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712083, China

Abstract: Objective According to the pharmacological effects of alleviating patient's leukopenia after chemotherapy of Zhengyuan Prescription (正源方), the chemical components of Zhengyuan Prescription were analyzed, network pharmacology study and animal experiment verification was conducted. **Methods** The main chemical components of Zhengyuan Prescription was detected by UPLC-TOF/MS technology, the action targets of main chemical components and the targets of leukopenia were searched through the databases. Then the Venn diagram was used to get the intersection targets. The protein-protein interaction network of intersection

收稿日期: 2021-05-14

基金项目: 国家重大科技专项“重大新药创制”项目 (2019ZX09301-133); 陕西省科技厅重点产业创新链 (群) 项目 (2020ZDLSF05-08); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-21)

作者简介: 张君威 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂。Tel: 15709101017 E-mail: 2982429741@qq.com

***通信作者:** 唐志书 (1972—), 教授, 博士生导师, 主要从事中药资源开发与中药质量分析研究。

Tel: (029)38185060 E-mail: tzs6565@163.com

刘妍如 (1985—), 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药质量控制研究。Tel: (029)38182201 E-mail: yanzi_2203@aliyun.com

targets and “herb-ingredient-target” network map were constructed by Cytoscape 3.7.2 software, meanwhile, the key components and targets with high degrees were screened out. R software was used to perform gene ontology function enrichment analysis and Kyoto encyclopedia of genes and genomes enrichment analysis. The healthy male SD rats were divided into the blank control group, model control group, positive drug group 0.11 g/(kg·d) (Diyu Shengbai Tablets), Zhengyuan Prescription high-dose [2.73 g/(kg·d)] medium-dose [1.37 g/(kg·d)], and low-dose [0.68 g/(kg·d)] groups. Cyclophosphamide [40 mg/(kg·d)] was given by intraperitoneal injection for 4 d to induce leukopenia rat model. The number of white blood cell was counted, and organ index was detected. Tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6) contents were detected with ELISA kit. **Results** Twenty-four main chemical components of Zhengyuan Prescription were obtained by UPLC-TOF/MS technology. Network pharmacology results showed that there were many active components in Zhengyuan Prescription, which acted on 377 targets, 1952 disease-related targets were retrieved, and 124 targets were intersected. The core components were screened such as ginsenoside Rg₁, ferulic acid, ginsenoside Rb₁, ginsenoside Rg₂, ginsenoside Ro, kaempferol; The key targets were screened such as IL-6 and TNF, the important pathways including IL-17 signaling pathway and so on. The animal experiments results showed that: Compared with the model group, the high and medium doses of Zhengyuan Prescription administration groups significantly increased the number of white blood cell and thymus index of rats, significantly reduced the elevated TNF- α and IL-6 levels in the serum ($P < 0.05$), and it can reduce the pathological damage of spleen and thymus tissues in rats with leukopenia. **Conclusion** The material basis of Zhengyuan Prescription for treating leukopenia is based on ginsenoside-based chemical components, and the related mechanism of action has the characteristics of multiple targets and multiple pathways.

Key words: Zhengyuan Prescription; cyclophosphamide; bone marrow suppression; leukopenia; *Panax quinquefolium* L.; network pharmacology

化疗是治疗恶性肿瘤的主要方法,大多数抗肿瘤药物通过抑制细胞增殖和肿瘤生长来发挥作用,因此,在化疗过程中患者的不良反应以骨髓抑制为主。骨髓抑制的发病机制与造血干细胞的衰老、凋亡及骨髓造血微环境的损伤有关^[1]。骨髓抑制的首发表现为白细胞减少,当白细胞计数低于 $4 \times 10^9/L$ 时,患者在临床上会表现出乏力、发热、面色苍白、免疫力下降等症状,常致化疗中断或延迟^[2]。

临床上主要使用粒细胞集落刺激因子、鲨肝醇、利血生等药物治疗白细胞减少症,但这些药物有价格昂贵和副作用多的缺点^[3-4]。近年来,中药复方、单体及中成药在防治骨髓抑制方面的研究逐渐增多,其疗效显著,毒副作用小,价格相对较低,越来越多地被临床采纳^[5]。中医认为白细胞减少症患者所表现的神疲乏力、少气懒言、脉虚无力等症状,可归属于“虚劳”范畴,故临床常采用益气、养血、滋阴的治疗方法^[6-7]。根据以上研究进展,陕西中医药大学附属医院肿瘤科基于益气养阴、养血补血、清热解毒、扶正祛邪的治则,充分吸纳“当归补血汤”“沙参麦冬汤”两首经典方的组方配伍规律及其适用特点,以西洋参、仙鹤草、当归、南沙参、重楼组成了正源方,临床实践证明该方适合于放、化疗所致的阴虚热毒,症见骨髓抑制、血细胞减少,对改善化疗后外周血象变化,升高白细胞具有一定作用。

中药复方遵循“君臣佐使、七情配伍”原则,其成分复杂,各成分之间相互协同或拮抗,作用于多个靶点,通过多种途径发挥药效^[8]。网络药理学具有系统性和整体性的特点,被广泛用于筛选中药有效成分、阐释作用机制等^[9]。本研究运用网络药理学方法,分析正源方干预白细胞减少症可能影响的信号通路和关键作用靶点。此外,构建白细胞减少症大鼠模型,检测相关指标,评价正源方缓解白细胞减少症的作用,并对网络药理学筛选得到的靶点进行初步验证。

1 仪器和材料

1.1 仪器

Acquity H-CLASS 型超高效液相色谱 (UPLC, 美国沃特世科技有限公司) 串联 Triple TOF™ 5600+ 质谱仪 (美国爱博才思公司), 液相配置: 二元超高压溶剂系统、FTN 自动进样管理器、PDA 检测器和 Empower3 色谱工作站; Sartorius CPA225D 型十万分之一电子分析天平, 德国赛多利斯科学仪器有限公司; KQ-300DE 型数控超声波清洗器, 江苏昆山市超声仪器有限公司; Thermo Micro17R 微量低温冷冻离心机, 美国 Thermo Fisher Scientific 有限公司; BC-5300 兽用全自动血液细胞分析仪, 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; Thermo1510 型全波长酶标仪, 美国赛默飞世尔科技有限公司; Eclipse Ci-L 正置白光拍照显微镜, 日本 Nikon 公司;

Pannoramic DESK/MIDI/250/1000 全景切片扫描仪, 匈牙利 3DHISTECH 公司; Donatello 脱水机, 意大利 Diapath 公司; JB-P 型生物组织包埋机, 武汉俊杰电子有限公司; JB-L5 型冻台, 武汉俊杰电子有限公司; RM2016 型病理切片机, 上海徕卡仪器有限公司; KD-P 型组织摊片机, 浙江省金华市科迪仪器设备有限公司; GFL-230 型烤箱, 津市莱玻璃仪器设备有限公司。

1.2 试剂与材料

甲醇, 分析纯, 批号 2018101801, 成都市科隆化学品有限公司; 乙腈 (批号 JA104530)、甲醇 (批号 I1077207008), 色谱纯, 德国默克公司; 甲酸 (LC/MS), 批号 205775, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司; 环磷酸胺一水合物, 批号 C0768-1G, Sigma 公司; 大鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒 (批号 R210312-003a)、大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) ELISA 试剂盒 (批号 R210312-102a), 欣博盛生物科技有限公司; 防脱载玻片, 武汉赛维尔生物科技有限公司。

正源方全方水提液粉末 (实验室自制), 方中 5 味中药饮片的批号和产地分别为西洋参, 批号 20190701, 产地吉林; 仙鹤草, 批号 20190501, 产地陕西; 当归, 批号 20181201, 产地甘肃; 南沙参, 批号 20181101, 产地江苏; 重楼, 批号 20190102, 产地云南, 陕西兴盛德药业有限责任公司, 经陕西中医药大学刘世军教授鉴定, 分别为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* L. 的干燥根、蔷薇科植物龙芽草 *Agripmonia pilosa* Ledeb. 的干燥地上部分、伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的干燥根、桔梗科植物沙参 *Adenophora stricta* Miq. 的干燥根、百合科植物云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. 的干燥根茎。

1.3 动物

SPF 级 SD 雄性大鼠, 6~8 周龄, 体质量为 180~220 g, 由西安交通大学医学部实验动物中心提供, 许可证号 SCXK (陕) 2018-001。环境温度 (23±2) °C, 湿度 (50±10) %, 12 h 光/暗循环 (光照时间 8:30~20:30), 自由进食饮水。在实验开始前每天给予连续 5 min 的抚摸适应, 1 周后大鼠随机分组。

所有动物实验遵循陕西中医药大学实验动物伦理委员会有关实验动物管理和使用的规定, 均符合 3R 原则。

2 方法与结果

2.1 UPLC/Q-TOF-MS/MS 检测正源方成分

2.1.1 供试品溶液的制备 取正源方粉末 (过三号筛) 样品约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 60% 甲醇 10 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 1 h, 放冷, 再次称定质量, 用 60% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液离心, 离心条件为 12 000 r/min, 10 min, 取上清液作为供试品溶液。

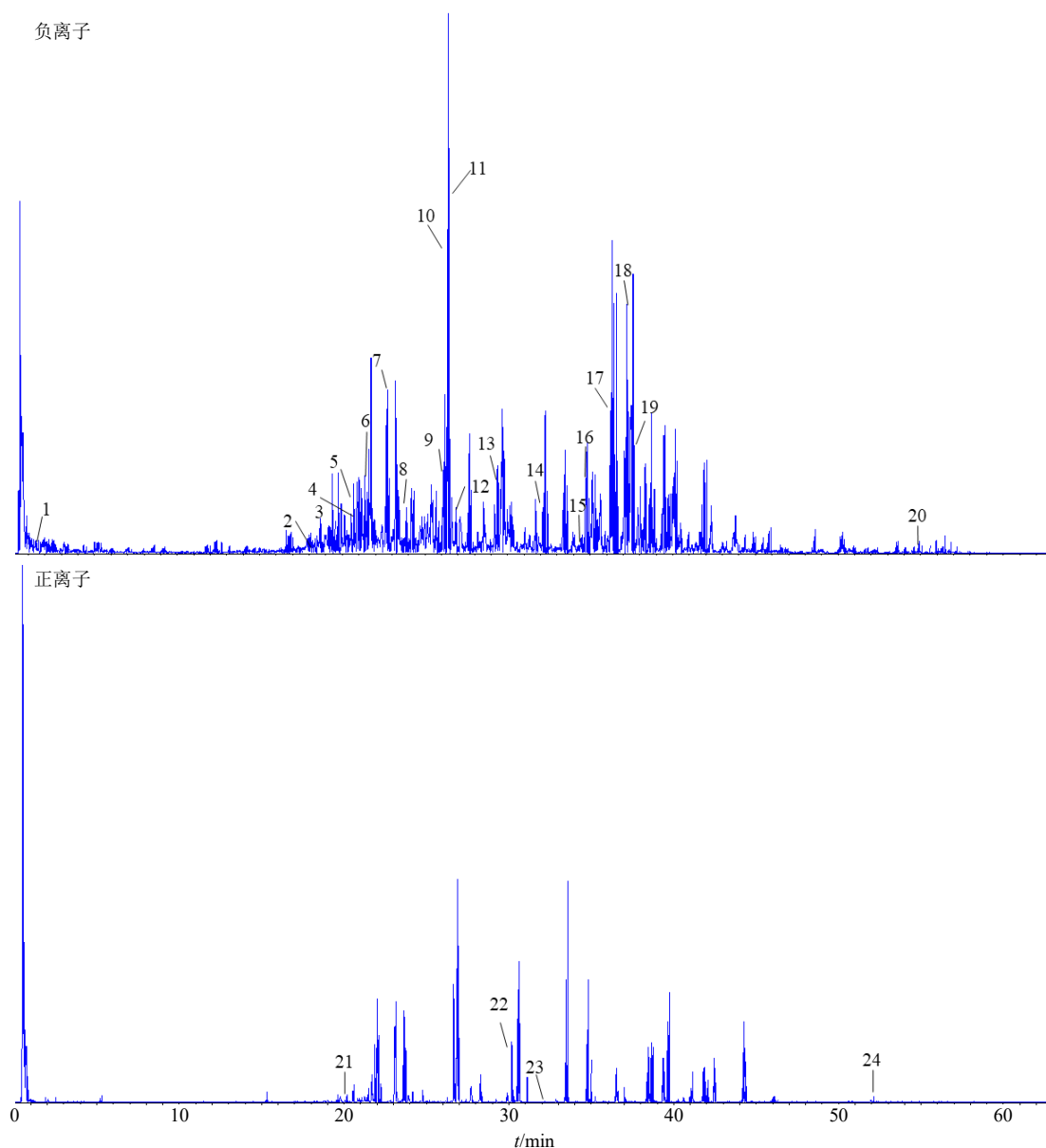
2.1.2 质谱条件 离子源为电喷雾离子源 (ESI), 正、负离子模式采集数据, 正、负离子模式下源喷射电压 (ionspray voltage floating, IVF) 分别为 5500、-4500 V, 裂解电压 (declustering potential, DP) 为 ±80 V, 碰撞能量 (collision energy, CE) 为 ±10 eV, 雾化气 (ion source gas 1, GS1) 和辅助气 (ion source gas 2, GS2) 为氮气, 皆为 344.74 kPa (50 psi), 气帘气 (curtain gas, CUR) 241.32 kPa (35 psi), 雾化温度 (temperature, TEM) 500 °C, 采用信息依赖采集 (IDA), 动态背景扣除 (DBS) 和高灵敏度模式采集数据, 母离子 (TOF-MS) 扫描范围 m/z 100~2000, 子离子扫描范围为 m/z 100~2000。

2.1.3 液相色谱条件 采用 Acquity UPLC® BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μ m) 色谱柱, 使用 0.1% 甲酸水溶液-乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 液相洗脱梯度: 0~10 min, 2% 乙腈; 10~15 min, 2%~5% 乙腈; 15~20 min, 5%~15% 乙腈; 20~25 min, 15%~20% 乙腈; 25~45 min, 20%~35% 乙腈; 45~55 min, 35%~45% 乙腈; 55~60 min, 45%~2% 乙腈; 60~63 min, 2% 乙腈; 柱温 30 °C; 体积流量 0.3 mL/min; 进样量 5 μ L。

2.1.4 UPLC/Q-TOF-MS/MS 检测结果 将检测得到的数据导入 PeakView 2.2 软件对化合物进行鉴定, 图谱结果见图 1, 结合文献报道, 共分析得 24 个化学成分, 结果见表 1^[10-20]。

2.2 正源方干预白细胞减少症网络药理学研究

2.2.1 化学成分和疾病交集靶点筛选 以“2.1.4”项中成分鉴别结果为基础, 整理正源方中主要化学成分, 并在数据库和文献中检索化学成分作用的靶点^[21-25]。使用的数据库有 ETCM (<http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/Index/index.html>)、BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)、SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)、PharmMapper (<http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>)。共检索到 524 个靶点, 其中西洋参



1-没食子酸 2-儿茶素 3-阿魏酸 4-鞣花酸 5-金丝桃苷 6-木犀草素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 7-槲皮苷 8-芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 9-人参皂苷 Rg₁ 10-人参皂苷 Rd 11-人参皂苷 Re 12-山柰酚 13-原薯蓣皂苷 14-拟人参皂苷 F₁₁ 15-人参皂苷 F₂ 16-人参皂苷 Rg₂ 17-人参皂苷 Rb₁ 18-人参皂苷 Rb₂ 19-人参皂苷 Ro 20-重楼皂苷 I 21-β-蜕皮激素 22-重楼皂苷 VI 23-藜本内酯 24-欧当归内酯 A
1-gallic acid 2-catechin 3-ferulic acid 4-ellagic acid 5-hyperin 6-luteolin-7-O-β-D-glucuronide 7-quercitrin 8-apigenin 7-O-beta-D-glucuronide 9-ginsenoside Rg₁ 10-ginsenoside Rd 11-ginsenoside Re 12-kaempferol 13-protodioscin 14-pseuginsenoside F₁₁ 15-ginsenoside F₂ 16-ginsenoside Rg₂ 17-ginsenoside Rb₁ 18-ginsenoside Rb₂ 19-ginsenoside Ro 20-polyphyllin I 21-hydroxyecdysone 22-polyphyllin VI 23-ligustilide 24-levistilide A

图 1 正源方正、负离子模式下 UPLC/Q-TOF-MS 离子流 IDA 提取图

Fig. 1 UPLC/Q-TOF-MS ion current IDA extraction spectrum of Zhengyuan Prescription in positive and negative ion mode

143 个、仙鹤草 136 个、当归 198 个、南沙参 5 个、重楼 42 个，去除重复后得到 377 个。同时，在 ETCM、TTD (<http://db.idrblab.net/ttd/>)、Gene Cards (<https://www.genecards.org/>)、Malacards (<https://www.malacards.org/>) 中以“leukopenia”(白细胞减少症)为关键词检索到 1952 个疾病相关靶点。将上述靶点上传至 Venny 2.1.0 网站([https://bioinfogp.cnb.csic.](https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html)

[es/tools/venny/index.html](https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html))，绘制韦恩图，提取到 126 个交集靶点，再通过 Uniport 网站 (<https://www.uniprot.org>) 校正 ID 后得 124 个靶点，结果见图 2。
2.2.2 “中药-化学成分-靶点”互作网络构建与分析
将 124 个交集靶点导入 STRING 11.0 (<https://string-db.org/>)，以人类(homo sapiens)为种属，查询蛋白相互作用信息，将得到的 TSV 文件导入 Cytoscape

表 1 TOF 成分表征结果
Table 1 Characterization results of TOF composition

峰号	归属	化合物名称	化学式	相对分子质量	t_R/min	MS/MS		文献
						母离子	特征子离子	
1	仙鹤草	没食子酸	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$	170.021 53	1.23	169.0	125.0, 107.0	10
2	仙鹤草	儿茶素	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_6$	290.079 04	18.67	289.0	179.0, 161.0	11
3	当归	阿魏酸	$\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$	194.057 91	19.78	193.0	178.0, 149.0, 134.0	12
4	仙鹤草	鞣花酸	$\text{C}_{14}\text{H}_6\text{O}_8$	302.006 26	21.08	301.0	284.0, 257.0, 229.0	11
5	仙鹤草	金丝桃苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$	464.095 49	21.60	463.0	300.0, 271.0	10
6	仙鹤草	木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{12}$	462.079 83	21.75	461.0	285.0	10
7	仙鹤草	槲皮苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$	448.100 56	22.77	447.0	300.0, 271.0	10
8	仙鹤草	芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷	$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$	446.084 90	23.27	445.0	269.0	10
9	西洋参	人参皂苷 Rg_1	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14} \cdot \text{HCOOH}$	846.497 68	26.22	845.5	637.2, 475.2	13
10	西洋参	人参皂苷 Rd	$\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18} \cdot \text{HCOOH}$	992.555 60	26.43	991.5	783.2	14
11	西洋参	人参皂苷 Re	$\text{C}_{48}\text{H}_{82}\text{O}_{18} \cdot \text{HCOOH}$	992.555 60	26.43	991.5	799.1, 637.2	14
12	仙鹤草	山柰酚	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	286.047 73	26.64	285.0	243.0, 151.0	10
13	重楼	原薯蓣皂苷	$\text{C}_{51}\text{H}_{84}\text{O}_{22} \cdot \text{HCOOH}$	1 094.550 90	29.43	1 093.5	901.5	15
14	西洋参	拟人参皂苷 F_{11}	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{14}$	800.492 19	32.32	799.1	653.1	14
15	西洋参	人参皂苷 F_2	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{13} \cdot \text{HCOOH}$	830.502 75	34.86	829.1	783.1	16
16	西洋参	人参皂苷 Rg_2	$\text{C}_{42}\text{H}_{72}\text{O}_{13}$	784.497 31	34.87	783.2	637.2, 475.2	17
17	西洋参	人参皂苷 Rb_1	$\text{C}_{54}\text{H}_{92}\text{O}_{23} \cdot \text{HCOOH}$	1 154.608 40	36.54	1 153.5	945.5	14
18	西洋参	人参皂苷 Rb_2	$\text{C}_{53}\text{H}_{90}\text{O}_{22}$	1 078.592 41	37.32	1 077.5	783.6	14
19	西洋参	人参皂苷 Ro	$\text{C}_{48}\text{H}_{76}\text{O}_{19}$	956.498 11	37.58	955.4	793.0	13
20	重楼	重楼皂苷 I	$\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{16} \cdot \text{HCOOH}$	900.471 86	54.97	899.5	721.1	15
21	重楼	β -蜕皮激素	$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_7$	480.308 72	20.03	481.3	445.3, 371.2, 165.1	18
22	重楼	重楼皂苷 VI	$\text{C}_{39}\text{H}_{62}\text{O}_{13}$	738.419 07	30.63	739.4	577.4	19
23	当归	藁本内酯	$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_2$	190.099 38	32.35	191.1	115.0	12
24	当归	欧当归内酯 A	$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$	380.198 76	52.14	381.0	191.0	20

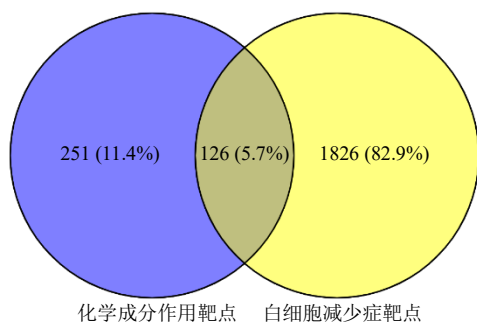


图 2 正源方化学成分作用靶点与疾病靶点的交集

Fig. 2 Intersection network of the compounds and disease targets of Zhengyuan Prescription

3.7.2 软件, 绘制 PPI 网络图 (图 3)。将 PPI 生成的交互信息结果, 与“中药-化学成分”和“化学成分-靶点”信息进行映射关联, 把关联表格导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 构建“中药-化学成分-靶点”

预测互作网络图 (图 4), 使用 Network analysis 插件分析网络节点和边的特征。图中包括 154 个节点 (5 种中药, 25 个成分, 124 个靶点) 和 2868 条边, 用节点大小表示度值的大小, 度值的大小代表该节点在网络中的重要性, 接近中心度的大小表示节点在网络中的中心度。在互作网络中, 度值和接近中心度最大的中药是西洋参 (度值=216, 接近中心度=0.39), 度值和接近中心度较大的化学成分是人参皂苷 Rg_1 (度值=62, 接近中心度=0.53)、阿魏酸 (度值=50, 接近中心度=0.52)、人参皂苷 Rb_1 (度值=48, 接近中心度=0.51)、人参皂苷 Rg_2 (度值=44, 接近中心度=0.51)、人参皂苷 Ro (度值=42, 接近中心度=0.51)、山柰酚 (度值=40, 接近中心度=0.50) 等, 根据度值和接近中心度的数值筛选, 排名前 10 的靶点详见表 2。

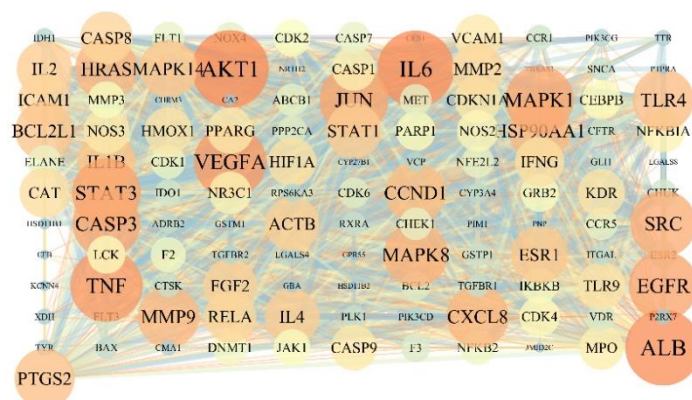


图 3 PPI 网络图

Fig. 3 Diagram of PPI network

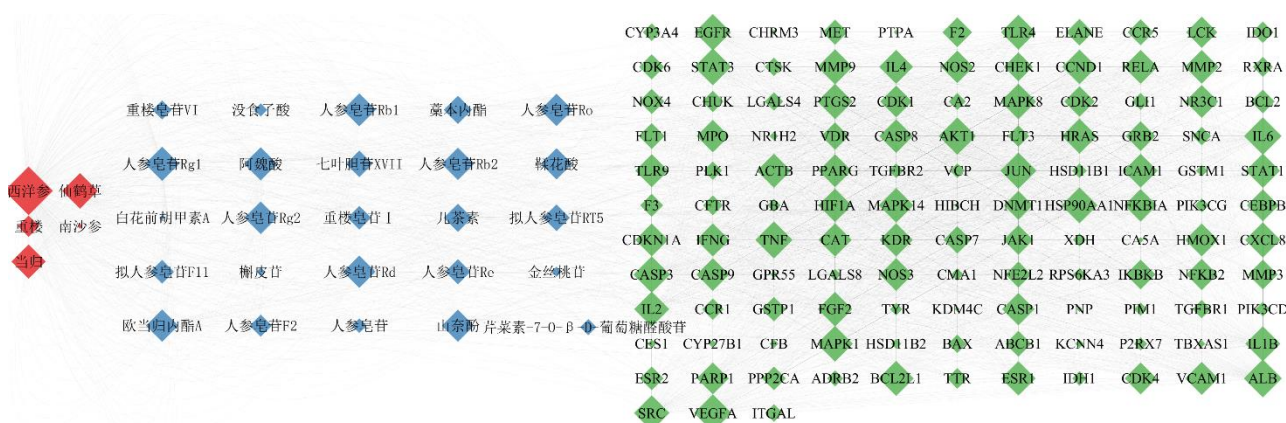


图 4 “中药-化学成分-靶点”图

Fig. 4 “Herb-ingredient-target” network map

表 2 “中药-化学成分-靶点”网络中主要靶点信息

Table 2 Main targets information in network of “herb-ingredient-target”

靶点	接近中心度	度值	靶点	接近中心度	度值
ALB	0.721 698	100	STAT3	0.695 455	90
IL6	0.698 630	95	CASP3	0.674 009	85
VEGFA	0.705 069	94	EGFR	0.674 009	83
AKT1	0.695 455	93	JUN	0.662 338	82
TNF	0.689 189	91	HSP90AA1	0.651 064	78

2.2.3 GO 和 KEGG 富集分析 使用 R4.0.3 软件中的 clusterProfiler 包对交集靶点进行 GO 和 KEGG 的富集分析, 结果见图 5。GO 分析结果显示, 细胞成分 (cellular component, CC) 提示交集靶点主要分布于膜筏、膜微域、膜区等; 分子功能 (molecular function, MF) 涉及聚合酶 II 特异性 DNA 结合转录因子结合、DNA 结合转录因子结合、蛋白磷酸酶结合等; 生物过程 (biological process, BP) 与对脂多糖的反应、细胞对氧化应激的反应、炎症反应的

调控等相关。以 KEGG 数据库对靶点基因参与的主要生化代谢途径进行富集和注释, 显著性差异设定卡值为 $P < 0.05$, 并对富集结果进行可视化处理, KEGG 富集到的相关通路有 PI3K-Akt 信号通路、流体切应力与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路等。

2.2.4 “信号通路-靶点”网络图 将 KEGG 富集到的前 20 条通路进行筛选, 排除与病毒、癌症相关的通路, 筛选到与白细胞减少症相关的通路 6 条, 分别为 PI3K-Akt 信号通路 (PI3K-Akt signaling pathway)、流体切应力与动脉粥样硬化 (fluid shear stress and atherosclerosis)、Th17 细胞分化 (Th17 cell differentiation)、TNF 信号通路 (TNF signaling pathway)、IL-17 信号通路 (IL-17 signaling pathway)、C 型凝集素受体信号通路 (C-type lectin receptor signaling pathway)。将通路与该通路上富集到的靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件, 构建“信号通路-靶点”图 (图 6)。经过 Network Analyzer 插件计算得度值排名前 10 的靶点见表 3, 这些靶点在通路上较为重

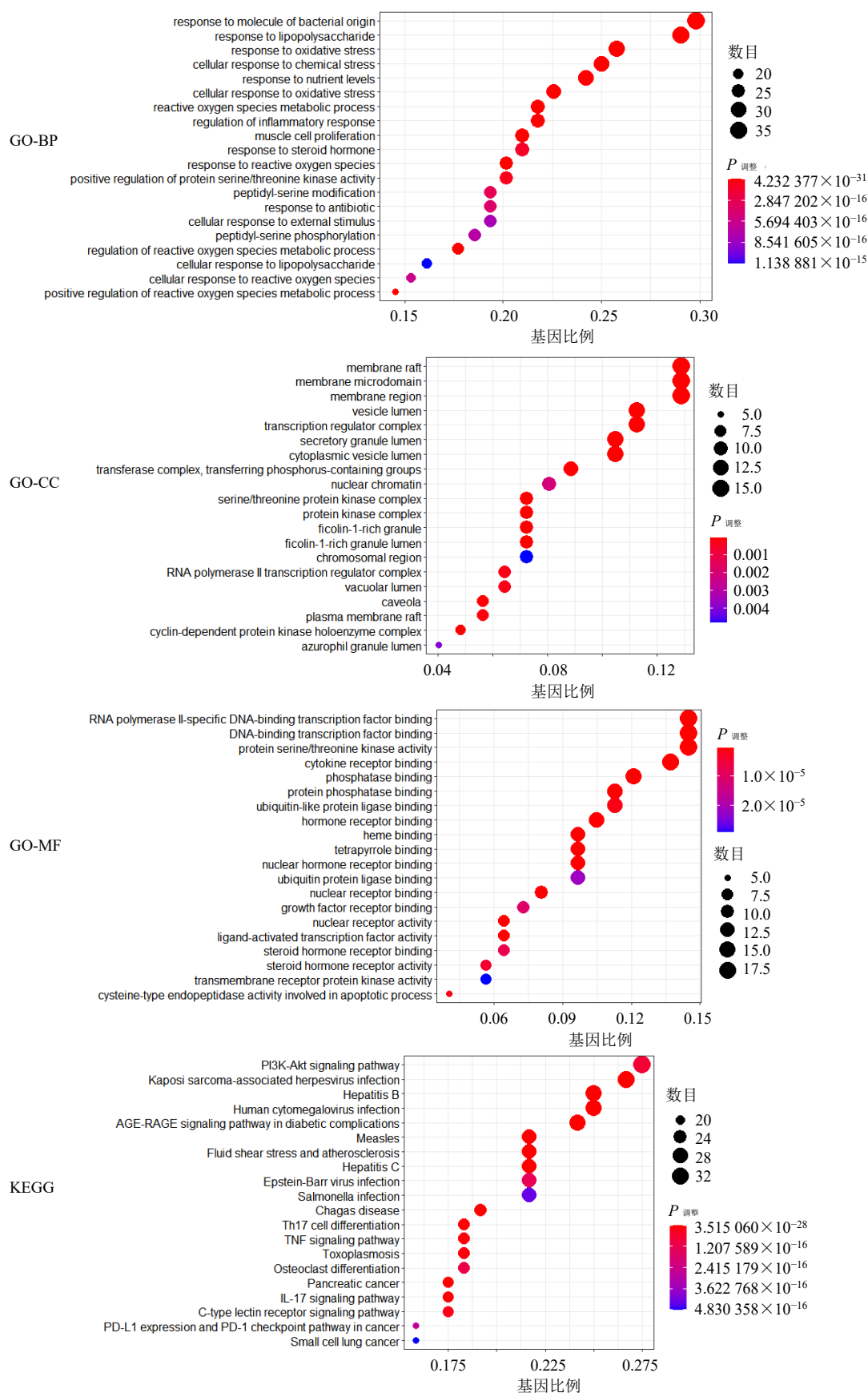


图 5 GO 和 KEGG 富集结果

Fig. 5 GO and KEGG enrichment results

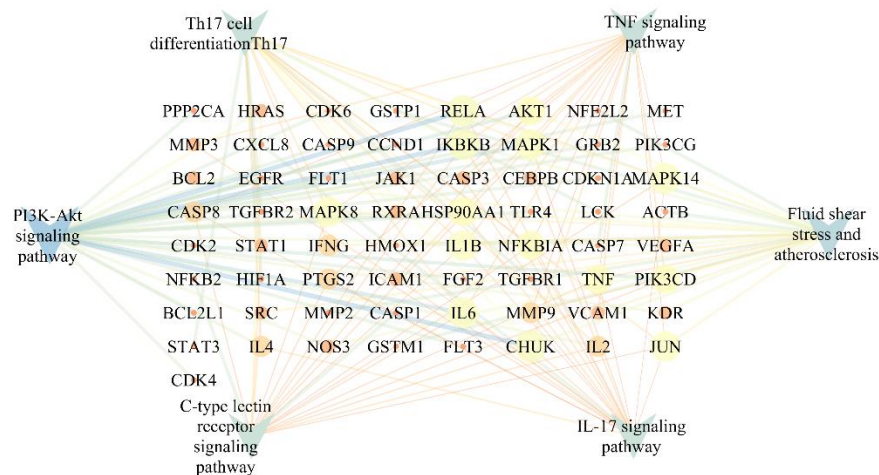


图 6 “信号通路-靶点”图

Fig. 6 “Signal pathway-target” diagram

表 3 信号通路上靶点相关信息

Table 3 Targets-related information on signal pathway

靶点	接近中心度	度值	靶点	接近中心度	度值
RELA	0.522 388	6	JUN	0.416 667	5
IKBKB	0.522 388	6	MAPK8	0.416 667	5
CHUK	0.522 388	6	IL6	0.472 973	5
IL1B	0.416 667	5	MAPK1	0.472 973	5
MAPK14	0.416 667	5	TNF	0.380 435	4

要。综合“2.2.2”的结果,“中药-化学成分-靶点”和“信号通路-靶点”两个网络图上度值排名前 10 的靶点中,共有靶点是 IL-6 和 TNF,推测这 2 个靶点在正源方干预白细胞减少症上的作用最为关键。将筛选出的 20 个度值高的靶点在信号通路上溯源,IL-17 信号通路上具有的靶点最多,并且 IL-6 和 TNF 也与 IL-17 信号通路有关,该条通路可以是正源方治疗白细胞减少症所调节的关键通路。

2.3 正源方对白细胞减少症大鼠模型作用研究

2.3.1 模型制备 运用环磷酰胺诱导大鼠白细胞减少症的模型来模拟人体接受化疗后的状态,根据文献检索以及预实验摸索结果,确定造模用剂量和给药剂量^[26-28]。大鼠适应 1 周后,随机分为空白组、模型组、阳性药(地榆升白片)组及正源方高、中、低剂量给药组,共 6 组,每组 10 只。其中,空白组注射生理盐水,模型组和给药组按环磷酰胺 40 mg/(kg·d)的剂量 ip 4 d,进行模型复制,观察到大鼠的外周白细胞下降即造模成功。造模结束后,按照阳性药组 0.11 g/(kg·d),正源方高剂量组 2.73 g/(kg·d)、中剂量组 1.37 g/(kg·d)、低剂量组 0.68

g/(kg·d)的剂量给药,每日 ig 1 次,共给药 10 d。

2.3.2 统计方法 采用 SPSS 25.0 统计学软件处理数据,计量资料差异比较采用单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA),多重比较方法选择 LSD 方法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.3.3 白细胞计数变化情况 从造模前开始检测血常规,观察实验过程中大鼠的白细胞数值变化情况,共测 4 次,结果如表 4 所示。在造模之前,大鼠的白细胞值在正常范围,各组间无统计学差异;造模结束后第 1 天(第 5 天),与空白组相比,模型组大鼠的白细胞数值显著降低至 $2 \times 10^9/L$ 以下($P < 0.01$),表明模型复制成功,由于此时暂未给药,因此,与模型组相比,各给药组无显著差异;给药 5 天后(第 10 天),与空白组相比,模型组大鼠的白细胞值显著降低($P < 0.01$),与模型组相比,各给药组白细胞值显著升高($P < 0.05$ 、 0.01),其中高剂量和中剂量给药组恢复情况较好;给药结束(第 15 天),与空白组相比,模型组大鼠的白细胞值显著降低($P < 0.01$),与模型组相比,各给药组白细胞值均显著升高($P < 0.01$),其中阳性药组,正源方高、中剂量组恢复情况较好。血常规检测结果说明,阳性药和正源方各给药组对环磷酰胺诱导的大鼠白细胞的降低有显著的恢复作用。

2.3.4 脏器指数 给药结束后,禁食 24 h,将大鼠麻醉,腹主动脉取血,制备血清,解剖取脏器,生理盐水冲洗后吸干脏器表面水分,称定质量,计算脏器指数,脏器指数=脏器质量/体质量。结果如表 5 所示,与空白组相比,模型组大鼠脾脏指数显著增高($P < 0.01$);与模型组相比,各给药组大鼠脾

表 4 大鼠不同时期白细胞计数变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 4 Changes of white blood cell counts in rats at different periods ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	WBC 值/(×10 ⁹ L ⁻¹)			
		造模前	第 5 天	第 10 天	第 15 天
空白	—	10.43±1.12	11.38±1.08	12.61±0.59	12.60±0.98
模型	—	10.30±1.10	1.60±0.47**	2.54±0.49**	2.57±0.36**
地榆升白片	0.11	11.20±0.57	1.53±0.24	4.54±1.19 ^{##}	11.48±0.93 ^{##}
正源方	2.73	10.61±1.12	1.60±0.08	5.85±1.03 ^{##}	12.18±0.64 ^{##}
	1.37	11.23±1.18	1.76±0.15	5.85±0.95 ^{##}	12.66±1.05 ^{##}
	0.68	10.63±1.25	1.89±0.39	3.87±0.68 [#]	4.24±0.95 ^{##}

与空白组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$, 下表同^{**} $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below tables表 5 各组大鼠脏器指数 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 5 Organ indexes of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	脾脏指数/ (mg·g ⁻¹)	胸腺指数/ (mg·g ⁻¹)
空白	—	1.70±0.07	1.32±0.12
模型	—	2.59±0.33**	0.44±0.10**
地榆升白片	0.11	3.17±0.57 [#]	0.51±0.15
正源方	2.73	3.99±0.37 ^{##}	0.84±0.13 ^{##}
	1.37	3.66±0.42 ^{##}	0.70±0.10 ^{##}
	0.68	3.08±0.38 [#]	0.50±0.08

脏指数显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), 造模使大鼠脾脏肿大, 且给药组无明显恢复作用。与空白组相比, 模型组大鼠胸腺指数显著降低 ($P < 0.01$), 环磷酰胺造模造成了胸腺的退行性病变, 与模型组相比, 正源方高剂量和中剂量组可以显著提高胸腺指数 ($P < 0.01$), 阳性药组以及低剂量组有所升高, 但无显著差异, 可能在该剂量下, 胸腺指数提高不明显。脏器指数结果说明, 正源方高剂量和中剂量组对白细胞减少症模型大鼠的胸腺指数下降具有一定的恢复作用。

2.3.5 正源方对白细胞减少症模型大鼠脾脏和胸腺病理学的影响 对大鼠脏器进行病理学检查, 使用 4% 多聚甲醛固定脏器, 将目的部位组织修平整后, 依次进行梯度酒精脱水, 将浸好蜡的组织包埋, 冷却, 再用石蜡切片机切片, 厚 4 μm, 切片漂浮于摊片机 40 °C 温水上, 60 °C 烘箱内烤片, 常温保存备用。观察结果如图 7 所示, 空白组脾脏白髓与红髓分界尚清晰, 白髓结构完整, 边缘区清晰, 脾小结多见生发中心, 脾小梁未见明显异常, 与空白组相比, 模型组脾脏白髓损伤, 结构消失, 淋巴细胞大

量减少, 脾小梁减少, 结构松解、消失, 与模型组相比, 阳性药组脾脏的白髓残留个别体积明显变小的轮廓, 正源方高、中剂量组能减轻脾脏白髓的损伤, 使其残留少量的轮廓, 红髓可见髓外造血细胞。空白组胸腺的小叶由含有大量小淋巴细胞的皮质和含有较多的上皮细胞的髓质组成, 分界清晰, 皮质淋巴细胞数量丰富, 排列密集, 与空白组相比, 模型组胸腺组织萎缩, 体积明显变小, 皮髓质分界模糊, 淋巴细胞大量消失, 与模型组相比, 阳性药组胸腺的皮髓质分界较模糊, 皮质染色变浅, 淋巴细胞数量轻度减少, 正源方高、中剂量组胸腺组织被膜未见明显异常, 皮髓质分界清晰, 淋巴细胞排列紧密。

2.3.6 正源方对大鼠血清中 TNF-α、IL-6 含量的影响 使用双抗体夹心法 ELISA 试剂盒检测大鼠血清中 TNF-α 和 IL-6 的含量, 结果如表 6 所示。与空白组相比, 模型组大鼠血清中的 TNF-α、IL-6 含量显著升高 ($P < 0.01$), 与模型组相比, 各给药组 TNF-α 含量均显著降低 ($P < 0.01$)。正源方给药组对白细胞减少症模型大鼠血清中 TNF-α、IL-6 的含量有一定的影响, 可以通过调节这 2 个靶点起到干预白细胞减少症的作用。

3 讨论

正源方处方由西洋参、仙鹤草、当归, 南沙参和重楼组成, 方中重用西洋参, 滋阴补气, 养胃生津, 为君药; 仙鹤草收敛止血, 有止血及升血小板的能力, 为臣药; 当归补血活血, 南沙参养阴清热, 二者同为佐药; 重楼清热解毒、消肿止痛, 有使药之效。诸药合用, 各奏其效, 主治证候明确, 共奏益气养阴、养血补血、清热解毒、扶正祛邪之效, 使用具有安全性和有效性^[29], 临床上对白细胞减少

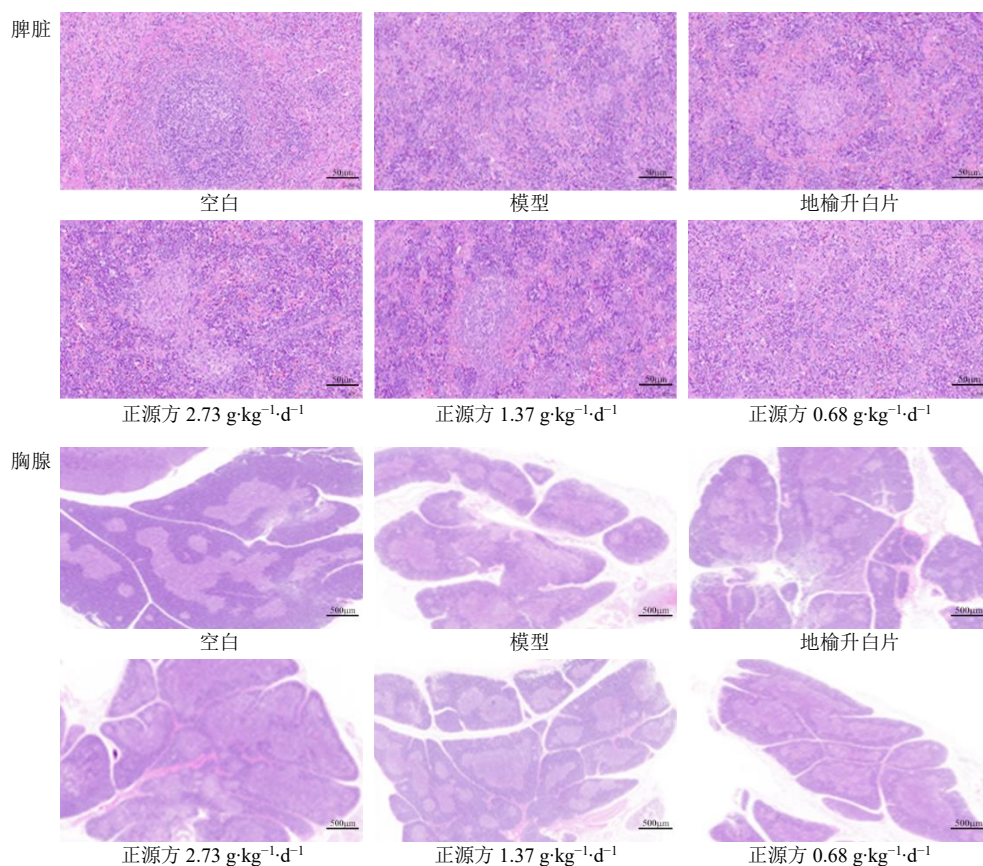


图 7 白细胞减少症模型大鼠脾脏 (×20) 和胸腺 (×2) 病理切片

Fig. 7 Pathological section of spleen (× 20) and thymus (× 2) in leukopenia rats

表 6 正源方对白细胞减少症模型大鼠血清 TNF-α、IL-6 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effect of Zhengyuan Prescription on serum TNF-α and IL-6 levels in rat of leukopenia models ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	TNF/ (pg·mL ⁻¹)	IL-6/ (pg·mL ⁻¹)
空白	—	49.49 ± 2.21	124.20 ± 9.20
模型	—	60.95 ± 2.34**	182.74 ± 17.07**
地榆升白片	0.11	52.97 ± 1.32 ^{##}	151.27 ± 12.85 ^{##}
正源方	2.73	52.07 ± 1.49 ^{##}	88.90 ± 13.79 ^{##}
	1.37	51.77 ± 1.79 ^{##}	109.97 ± 17.61 ^{##}
	0.68	51.63 ± 2.58 ^{##}	72.04 ± 17.38 ^{##}

症有疗效。本研究使用液质联用技术鉴别出正源方中 24 个关键的化学成分, 包括黄酮类以及人参皂苷类成分。结合主要化学成分作用靶点和疾病的相关靶点进行网络药理学研究, 通过“中药-成分-靶点”互作网络图筛选得到度值较高的活性成分有人参皂苷 Rg₁、阿魏酸、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₂、人参皂苷 Ro、山柰酚等。其中人参皂苷 Rg₁ 可以促进辐射后小鼠造血功能的恢复, 并升高小鼠白细胞

数值^[30]; 阿魏酸可恢复骨髓抑制小鼠白细胞和骨髓造血组织面积^[31]; 人参皂苷 Rb₁ 能提高肿瘤模型小鼠的免疫功能, 并拮抗 5-氟脲嘧啶对免疫功能的抑制作用^[32]; 人参皂苷 Ro 可以提高白血病来源树突状细胞抗原提呈及活化适应性免疫应答的功能^[33]; 山柰酚能增强脾淋巴细胞活力, 促进淋巴细胞增殖, 加强机体的免疫应答^[34], 这几种成分可能是正源方发挥治疗作用的主要药效成分。

正源方中的活性成分可通过多个靶点发挥治疗白细胞减少症的作用, 其中关键的靶点是 IL-6 和 TNF 等共 20 个。IL-6 和 TNF-α 是重要的促炎因子, 会破坏骨髓造血的微环境, 导致骨髓抑制, 抑制造血干细胞增殖分化^[35]。IL-6 也是一种对免疫调节至关重要的细胞因子, 在先天免疫反应和适应性免疫中的重要作用^[36]。当 IL-1、IL-6 和 TNF-α 这些因子激活抗体后, 巨噬细胞、T 细胞、内皮细胞产生并分泌 G-CSF 和 GM-CSF, 可用于治疗白细胞减少症^[37]。IL-6 可刺激 B 细胞增殖分化为浆细胞并产生抗体, 促进原始 T 细胞向 Th17 分化, 使 IL-21、IL-17 等因子分泌增加, 从而调节肿瘤生长等病理过程^[38]。

IL-6 主要与淋巴细胞、粒细胞在内的白细胞的生长和分化有关,因此测定其在血清中的含量^[39]。有研究制备黑色素瘤小鼠模型,运用生白汤联合环磷酰胺治疗后,血清中 IL-6 含量会降低^[40],与对照组相比,环磷酰胺诱导白细胞减少症模型后血清 IL-6 水平显著升高^[41]。TNF- α 可激活巨噬细胞、白细胞,促进血小板激活因子、NO、前列腺素和白细胞三烯等的产生,它们相互作用引起炎性介质过度释放,加重组织器官的损害^[42]。在本研究中,与空白组相比,模型组 IL-6 和 TNF- α 在血清中的含量显著增高,说明白细胞减少症会引起这 2 个因子的活化,然而,与模型组相比,正源方给药组对模型大鼠血清中升高的 TNF- α 、IL-6 含量有显著降低作用。

由通路富集结果可知,正源方的活性成分可能主要作用于 IL-17 信号通路,IL-17 诱导中性粒细胞,这种作用是通过非造血靶细胞产生 GCSF、MCP-1 和 CXCL 趋化因子间接实现的,IL-17 缺乏与中性粒细胞活性降低有关^[43]。有研究证实 IL-17 可以刺激细胞产生 TNF- α 和 IL-6, TNF- α 和 IL-6 通过下调 TLR2 介导的 ERK1/2 磷酸化使 NF- κ B 激活,产生进一步作用^[44]。目前,正源方治疗白细胞减少症所涉及的相关通路还有待进一步的研究和验证。

此外,本实验中制备动物模型,观察正源方对白细胞减少症模型大鼠的影响,发现正源方高、中剂量给药组可以显著升高大鼠白细胞计数和胸腺指数,并且减轻由于造模导致脾脏和胸腺组织的病理损伤。本研究体现了正源方干预化疗后引起的白细胞减少症具有多成分,多靶点的作用特点,为正源方的临床应用提供理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 何怀阳,谢长生. 中医药防治恶性肿瘤化疗后骨髓抑制的研究进展 [J]. 中医文献杂志, 2017, 35(2): 67-70.
- [2] Pan L, Zhang T, Cao H, et al. Ginsenoside Rg₃ for chemotherapy-induced myelosuppression: A meta-analysis and systematic review [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 649.
- [3] 齐晓甜,张家祥,张晓亮,等. 中药治疗化疗致白细胞减少症的研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 5088-5095.
- [4] 马晓兰,陶可胜,李静. 肿瘤化疗后白细胞减少症的中西医结合治疗进展 [J]. 中国当代医药, 2015, 22(8): 16-19.
- [5] 曾妙,甘家丽,黄培峰,等. 中医药防治化疗后骨髓抑制疗效及药理机制研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(10): 213-216.
- [6] 林飞,黄丹,陈婷婷,等. 基于网络药理学的黄芪-鸡血藤配伍治疗白细胞减少症作用机制研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6): 882-887.
- [7] 廖子玲. 揞针辅助治疗化疗后白细胞减少的临床研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [8] 任艳,邓燕君,马焱彬,等. 网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战 [J]. 中草药, 2020, 51(18): 4789-4797.
- [9] 孟凡翠,汤立达. 中药网络药理学研究中存在的问题与发展展望 [J]. 中草药, 2020, 51(8): 2232-2237.
- [10] 刘位杰,梁敬钰,孙建博,等. 仙鹤草化学成分及药理作用研究进展 [J]. 海峡药学, 2016, 28(2): 1-7.
- [11] 李君,杨杰. 仙鹤草主要化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2020, 39(4): 54-60.
- [12] 李曦,张丽宏,王晓晓,等. 当归化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中药材, 2013, 36(6): 1023-1028.
- [13] 孟祥颖,任跃英,李向高,等. 西洋参中皂苷类成分的研究综述 [J]. 特产研究, 2001, 23(3): 43-47.
- [14] 胡晒平,严建业,伍红年,等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的西洋参提取物及入血成分分析 [J]. 中南药学, 2019, 17(6): 825-830.
- [15] 武珊珊,高文远,段宏泉,等. 重楼化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 344-347.
- [16] 陈军辉. 西洋参活性成分及其指纹图谱研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2005.
- [17] 孟琼,钱正明,陈治宇,等. 西洋参高效液相色谱特征研究 [J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5): 791-795.
- [18] 肖女,盖丽,罗斌,等. 重楼药理作用研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(67): 51-51.
- [19] 张秋萍,毕慧欣,谢琳. 重楼的药理作用及其临床应用研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(20): 4113-4117.
- [20] 杨英来,胡芳,刘小花,等. 当归补气活性部位的谱效关系研究 [J]. 中草药, 2013, 44(23): 3346-3351.
- [21] Ke S Y, Yu S J, Liu D H, et al. Ginsenoside Rb₁ protects human umbilical vein endothelial cells against high glucose-induced mitochondria-related apoptosis through activating SIRT3 signalling pathway [J]. *Chin J Integr Med*, 2021, 27(5): 336-344.
- [22] Yang C, He X, Zhao J, et al. Hepatoprotection by ginsenoside Rg₁ in alcoholic liver disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 92: 107327.
- [23] 李昊楠,孔浩天,李晓彬,等. 利用网络药理学整合分子对接技术研究人参抗心力衰竭的潜在药效物质基础及作用机制 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2020, 22(12): 4083-4093.
- [24] 李千会,葛卓望,田丁,等. 人参皂苷 Rg₁ 对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用及其机制研究 [J]. 中国中

- 药杂志, 2021, 46(6): 1460-1466.
- [25] 乔巨慧, 赵大庆, 刘美辰, 等. 人参总皂苷对 D-半乳糖致 PC12 细胞衰老的改善作用及其机制研究 [J]. 中国药房, 2020, 31(24): 2993-2999.
- [26] 冯立志, 何伟平, 詹少锋, 等. 健脾补血方改善环磷酰胺诱导的小鼠骨髓及免疫抑制的机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(8): 904-909.
- [27] 何小燕, 颜磊, 徐向平, 等. 驴胶补血颗粒对环磷酰胺致小鼠白细胞减少症的作用及代谢组学机制研究 [J]. 中草药, 2018, 49(10): 2282-2290.
- [28] 朱映黎, 王林元, 赵丹萍, 等. 芍药内酯苷、芍药苷对血虚免疫抑制小鼠的补血作用及机制 [J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(3): 204-207.
- [29] 曲永红, 王鹏远, 唐俊琪, 等. 正源方对免疫性血小板减少性紫癜小鼠的影响 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(2): 124-128.
- [30] 李渊, 周玥, 王亚平, 等. 人参皂苷 Rg₁ 基于 SIRT6/NF- κ B 信号通路对辐射致造血干/祖细胞衰老的保护作用 [J]. 中草药, 2017, 48(21): 4497-4501.
- [31] 徐昊, 黄小平, 张伟, 等. 黄芪和当归的主要活性成分配伍对骨髓抑制小鼠造血功能的影响 [J]. 中国药理学通报, 2019, 35(5): 707-713.
- [32] 曲婷婷, 金岩, 柳越冬, 等. 人参皂苷 Rb₁、Rg₁ 与 5-氟脲嘧啶对荷瘤小鼠免疫功能的影响 [J]. 中医研究, 2006, 19(5): 16-18.
- [33] 李紫薇, 于宁, 朱肖肖, 等. 人参皂苷 Ro 促进 THP-1 细胞向 DC 分化的作用 [J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(8): 1170-1176.
- [34] 杨佳. 山柰酚对小鼠淋巴细胞活力与焦亡的影响 [D]. 成都: 四川农业大学, 2019.
- [35] 杨淑艳, 吴茂林, 吴昕. 二仙升白汤联合黄芪鳝鱼汤治疗化疗后白细胞减少症及对免疫功能的调节作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(16): 125-130.
- [36] Jordan S C, Choi J, Kim I, *et al.* Interleukin-6, a cytokine critical to mediation of inflammation, autoimmunity and allograft rejection: Therapeutic implications of IL-6 receptor blockade [J]. *Transplantation*, 2017, 101(1): 32-44.
- [37] Mehta H M, Malandra M, Corey S J. G-CSF and GM-CSF in Neutropenia [J]. *J Immunol*, 2015, 195(4): 1341-1349.
- [38] 靳垚, 史长松, 刘炜, 等. 不同剂量丙种球蛋白对急性免疫性血小板减少症患者血清白细胞介素-6 和白细胞介素-10 及自然杀伤细胞表达的影响 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(5): 466-469.
- [39] 黄鹏里. 芪精升白颗粒治疗小鼠白细胞减少症的有效成分及作用机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2019.
- [40] Wang H, Qiu M, Li Y, *et al.* Combination of cyclophosphamide and Shengbai Decoction has synergistic effect against melanoma [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 126: 109866.
- [41] Tian S, Huang P, Gu Y, *et al.* Systems biology analysis of the effect and mechanism of Qi-Jing-Sheng-Bai Granule on leucopenia in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 408.
- [42] 徐文慧. 中药复方对急性辐射损伤小鼠的防护作用及机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [43] Li X, Bechara R, Zhao J, *et al.* IL-17 receptor-based signaling and implications for disease [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1594-1602.
- [44] 岑祥莹, 陆元兰, 王怡宁, 等. IL-17 和 NF- κ B 信号通路在敌草快中毒后肾损伤中的作用及相互关系 [J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(23): 42-45.

[责任编辑 郑礼胜]