

• 数据挖掘与循证医学 •

多水平转录组学探讨脓毒症的态靶病理机制及靶药研究

黎祖鸣¹, 罗愉翔¹, 封杰妮¹, 李小雅¹, 陈雪如¹, 卢月^{1,2}, 陈剑坤^{1,2}, 李际强^{1,2*}, 杨荣源^{1,3,4*}

1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510405

2. 广州中医药大学第二附属医院(广东省中医院), 广东 广州 510120

3. 广东省中医急症研究重点实验室, 广东 广州 510120

4. 中医证候全国重点实验室, 广东 广州 510120

摘要: **目的** 综合分析脓毒症相关单细胞转录组学和转录组学数据集, 探讨脓毒症相关态靶病理机制, 构建脓毒症态靶预后模型, 并挖掘潜在靶向中药及其活性成分。 **方法** 运用差异表达基因分析和韦恩图鉴定出脓毒症态靶相关基因。通过蛋白质-蛋白相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络连接度使用随机游走算法得到关键模块基因, 采用基因本体论 (gene ontology, GO) 的生物过程 (biological process, BP) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 深入分析关键模块基因的生物功能; 单细胞转录组分析探讨脓毒症态靶相关基因在其中的作用。通过脓毒症患者的基因表达数据及临床生存数据构建脓毒症态靶预后模型。采用脓毒症小鼠模型和实时定量聚合酶链反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR) 验证脓毒症态靶预后相关基因的表达水平。通过逆向网络药理学筛选脓毒症态靶相关基因的潜在靶向中药及其入血活性成分, 并采用分子对接技术验证活性成分与预后相关靶点之间的结合性能。 **结果** 得到 70 个脓毒症毒态相关基因、67 个脓毒症瘀态相关基因、54 个脓毒症虚态相关基因, 毒态关键模块基因与炎症密切相关, 瘀态关键模块基因与凝血密切相关, 虚态关键模块基因与细胞稳态密切相关。AUC_{cell} 评分显示, 单核细胞对脓毒症毒态和虚态作用评分最高, 血小板对脓毒症瘀态作用评分最高。毒态高分单核细胞中代谢与炎症相关基因及通路的活性明显上调; 瘀态高分血小板中血小板活化与凝血/血栓形成相关基因及通路的活性明显上调; 相对于正常组, 脓毒症患者中单核细胞存在大量表达下调的基因, 涉及抗原呈递、细胞能量代谢、细胞周期、蛋白质合成等。基于 8 个靶点 [白细胞介素-1 受体 2 型 (interleukin-1 receptor type 2, IL1R2)、ADP-核糖基化因子样蛋白 4C (ADP ribosylation factor like GTPase 4C, ARL4C)、细胞色素 C 氧化酶亚基 7B (cytochrome C oxidase subunit 7B, COX7B)、真核翻译起始因子 2 亚基 γ (eukaryotic translation initiation factor 2 subunit gamma, EIF2S3)、立即早期反应 3 (immediate early response 3, IER3)、LSM1 同源物 (LSM1 homolog, LSM1)、弗林蛋白酶 (paired basic amino acid cleaving enzyme, FURIN) 和锚蛋白重复结构域 9 (ankyrin repeat domain-containing protein 9, ANKRD9)] 构建的脓毒症态靶预后模型具有良好的生存预后预测能力, 动物实验及 RT-PCR 验证了其表达水平。基于中药分子机制生物信息学分析工具数据库 (bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine, BATMAN-TCM) 和中药血液吸收成分及代谢物数据库 (database of constituents absorbed into the blood and metabolites of traditional Chinese medicine, DCABM-TCM) 的逆向网络药理学分析筛选得到多种具有清热解毒、活血化瘀、补益扶正功效的中药及其入血活性成分, 分子对接表明代表性入血活性成分与预后相关靶点具有良好的结合性能。 **结论** 单核细胞代谢重编程驱动下的炎症反应激活可能是脓毒症毒态的主要病理机制; 血小板活化-凝血/血栓形成可能是脓毒症瘀态的主要病理机制; 单核细胞功能紊乱-免疫抑制可能是脓毒症虚态的主要病理机制。基于 8 个基因的模型可作为脓毒症态靶预后的风险预测模型。

关键词: 脓毒症; “态靶”理论; 单细胞转录组; 转录组; 预后模型; 动物模型; 逆向网络药理学

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)01-0194-20

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.01.019

Multi-level transcriptome analysis to explore state and target pathological mechanism and target drugs of sepsis

收稿日期: 2025-09-24

基金项目: 国家中医药管理局中医药创新团队及人才支持计划项目 (ZYJCXTD-D-202203); 广州市科技局市校院联合资助项目-广州市中西医结合防治新发传染病重点实验室 (202201020382); 广东省科技计划项目 (2023B1212060062); 广东省中医急症研究重点实验室开放项目 (KF2023JZ06)

作者简介: 黎祖鸣, 本科, 从事中医药防治呼吸系统疾病的临床与基础研究。E-mail: gzylizuming@126.com

***通信作者:** 杨荣源, 硕士, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治呼吸系统疾病的临床与基础研究。E-mail: yangrongyuan@163.com

李际强, 博士, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药防治呼吸系统疾病的临床与基础研究。E-mail: lijiaqiangjizhen@163.com

LI Zuming¹, LUO Yuxiang¹, FENG Jieni¹, LI Xiaoya¹, CHEN Xueru¹, LU Yue^{1, 2}, CHEN Jiankun^{1, 2}, LI Jiqiang^{1, 2}, YANG Rongyuan^{1, 3, 4}

1. Second Clinical Medical College, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

2. Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

3. Guangdong Province Traditional Chinese Medicine Emergency Research Primary Laboratory, Guangzhou 510120, China

4. National Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Syndrome, Guangzhou 510120, China

Abstract: Objective To explore “state and target” pathological mechanism of sepsis by comprehensively analyzing the single-cell transcriptomics and transcriptomic datasets related to sepsis, construct the prognostic model for “state and target” of sepsis, and explore potential target Chinese medicines and active ingredients. **Methods** Differential expression gene analysis and venn diagram analysis were used to identify “state and target” of sepsis related genes. Key module genes were obtained using the random walk algorithm through the connectivity of the protein-protein interaction (PPI) network. Gene ontology (GO) biological process (BP) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) were used to analyze the biological functions of key module genes. To explore the role of “state and target” of sepsis related genes by single-cell transcriptome analysis. A prognostic model for “state and target” of sepsis was constructed using gene expression data and clinical survival data from sepsis patients. The expression levels of prognostic genes for “state and target” of sepsis were validated by constructing sepsis mouse model and real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). Through reverse network pharmacology, potential targeted traditional Chinese medicines and their active components were screened, and molecular docking was used to verify the binding performance between active ingredients and prognostic targets. **Results** A total of 70 genes related to “toxic state” of sepsis, 67 genes related to “stasis state” of sepsis and 54 genes related to “deficiency state” of sepsis were obtained. The key module genes of “toxic state” of sepsis were closely related to inflammation, the key module genes of “stasis state” of sepsis were closely related to coagulation, and the key module genes of “deficiency state” of sepsis were closely related to cell homeostasis. AUC score showed that monocyte had the highest score for “toxic state” and “deficiency state” of sepsis. Platelet had the highest score for “stasis state” of sepsis. The activities of metabolic and inflammatory related genes and pathways were significantly up-regulated in monocytes with high “toxic state” score. Platelet activation and coagulation/thrombosis related genes and pathways were significantly up-regulated in platelet with high “stasis state” score. Compared with control group, there were a large number of down-regulated genes in monocytes of sepsis patients, which were involved in antigen presentation, cell energy metabolism, cell cycle, protein synthesis, etc. The prognostic model for “state and target” of sepsis constructed based on eight targets [interleukin-1 receptor type 2 (IL1R2), ADP ribosylation factor like GTPase 4C (ARL4C), cytochrome C oxidase subunit 7B (COX7B), eukaryotic translation initiation factor 2 subunit gamma (EIF2S3), immediate early response 3 (IER3), LSM1 homolog (LSM1), paired basic amino acid cleaving enzyme (FURIN) and ankyrin repeat domain-containing protein 9 (ANKRD9)] had good prognostic predictive ability, and the expression levels of these genes were validated using animal experiments and RT-PCR. Based on the bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine (BATMAN-TCM) database and database of constituents absorbed into the blood and metabolites of traditional Chinese medicine (DCABM-TCM), reverse network pharmacology analysis had screened multiple Chinese herbal medicines with effects of clearing heat and detoxifying, activating blood and resolving stasis, and reinforcing healthy qi and their active ingredients entering the blood. Molecular docking showed that representative active ingredients have good binding properties with prognostic targets. **Conclusion** Activation of inflammatory response driven by monocyte metabolic reprogramming may be the main pathological mechanism of “toxic state” of sepsis. Platelet activation-coagulation/thrombosis may be the main pathological mechanism of “stasis state” of sepsis. Monocyte dysfunction-immunosuppression may be the main pathological mechanism of “deficiency state” of sepsis. A model based on eight genes can serve as a risk prediction model for the prognosis of “state and target” of sepsis.

Key words: sepsis; “state and target” theory; single-cell transcriptome; transcriptome; prognostic model; animal model; reverse network pharmacology

脓毒症 (sepsis) 是一种由感染引发的全身性炎症反应综合征, 其病理机制涉及炎症激活、免疫失调、代谢紊乱及凝血异常等多系统交互作用, 尽管抗感染与支持治疗不断进步, 但脓毒症死亡

率仍高居不下^[1-2]。中医认为“毒热炽盛、瘀血阻络、正气亏虚”是脓毒症的核心病机, 以正气不足为本, 外感六淫疫毒或内生痰热瘀毒为标, 导致热毒壅盛、络脉瘀滞、气血逆乱, 最终引发阴

阳失衡及多脏器功能衰竭，其病理演变呈现“正邪交争-毒瘀内阻-气阴耗竭”的恶性循环，涉及毒热炽盛、瘀血阻络、气阴两虚等证候交杂的动态过程^[3-5]。虽然这些理论已经过临床实践检验，但脓毒症各证候形成和发展的分子机制仍不明确；各证候间的动态相互作用机制尚不清楚。证候作为中医理论的核心，其生物学基础不清、病证之间的关联机制不明，是制约中医药现代化发展的一大瓶颈^[6]。

“态靶理论”是由全小林院士创立的一种将中医辨证思维与系统生物学技术方法有机整合的中西医协作诊疗范式。该理论通过整合现代疾病诊断体系，基于中医整体观，动态解析疾病全周期，构建疾病阶段特征图谱并提炼核心病理转归规律。进而推导治则、治法与方剂配伍策略，建立病证-方药体系，实现基于生物标志物驱动的个体化精准干预^[7-8]。目前中医认为脓毒症患者多分为 3 态：毒态、瘀态、虚态，分别对应疾病的不同病理阶段^[3]。通过对证候的辨析，结合患者的临床表现、现代医学的病理学结果及中药的药理特性，来确定不同“态”所对应的靶向药方。在此过程中，阐释脓毒症患者“毒态、瘀态、虚态”的态靶病理机制是拟定靶方靶药的关键环节。

基于系统生物学方法解析中医证候的分子调控网络是实现中医药理论体系现代化重构的核心技术路径。转录组学（RNA sequencing, RNA-seq）作为在整体转录调控层面解析细胞基因表达的全景式动态变化的学科，是衔接基因组信息与表型功能的枢纽性技术平台，为阐释证候演变的多维度分子网络提供定量化依据^[9]。单细胞转录组学（single-cell RNA sequencing, scRNA-seq）作为解析单细胞层级的异质性生物系统的突破性技术，使精确识别疾病微环境中特定细胞亚群的时序性分子事件成为可能^[10]。该技术在中医证候分型研究中的应用不仅可建立证候-细胞亚群-分子靶点的多维映射模型，更能推动辨证论治体系向生物标志物驱动的精准诊疗范式转型^[11]。因此，本研究综合分析了脓毒症相关 RNA-seq 和 scRNA-seq 数据，初步揭示了脓毒症患者“毒态、瘀态、虚态”的态靶病理机制，构建脓毒症态靶预后模型，并且筛选其潜在靶向中药及入血活性成分，为脓毒症的“态-靶-药”精准治疗提供理论依据，为脓毒症的靶方靶药临床治疗方案提供新思路。

1 资料与方法

1.1 数据来源与处理

从基因表达综合数据库（<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>）下载脓毒症相关 RNA-seq 数据集 GSE185263^[12]和 GSE65682^[13]。GSE185263 包括 348 个脓毒症患者外周血单核细胞样本（peripheral blood mononuclear cells, PBMC）和 44 个正常 PBMC 样本（正常组）。GSE65682 包括 479 个脓毒症患者 PBMC 样本和 42 个正常 PBMC 样本（正常组）。GSE185263 用作训练组，GSE65682 用作验证组及预后分析。检索得到脓毒症相关 scRNA-seq 数据集 GSE167363^[14]，该数据集包含 5 个脓毒症存活患者 PBMC（存活组）、5 个脓毒症死亡患者 PBMC（死亡组）和 2 个正常 PBMC（正常组）。使用 Seurat 包（R4.2.2）对其进行处理，使用 CreateSeuratObject 函数创建 Seurat 对象，检测到 200<基因<5 000 且线粒体基因<25%的细胞被保留用于后续分析。使用 NormalizeData 和 FindVariable Features 函数进行归一化和确定高变基因。使用 0.7 分辨率的均匀流形逼近和投影图（uniform manifold approximation and projection, UMAP）对细胞簇进行聚类。使用 FindAllMarkers 函数识别标记基因，设置参数为 min.pct=0.25 和 logfc.threshold=0.25，选择校正后 P 值（ P_{adj} ）<0.05 的基因作为特异性标记基因。然后根据特异性标记基因对细胞簇进行注释。

1.2 脓毒症态靶相关基因的鉴定

使用 limma 包对脓毒症样本与正常样本进行差异表达基因（differentially expressed genes, DEGs）分析，DEGs 筛选标准为 $P<0.05$ 和 $|\log_2FC|>1$ [FC 表示差异倍数（fold change）]。通过中医证候本体及多维定量关联计算平台（integrated web platform from syndrome ontology to network-based evaluation of disease-syndrome-formula associations, SoFDA, <http://www.tcmip.cn/Syndrome/front/#/>）^[15]分别搜集热毒证、血瘀证和气虚证的主症相关基因集，共获得热毒证相关基因 361 个、血瘀证相关基因 374 个和气虚证相关基因 329 个。SoFDA 是一个中医证候本体论、证候分类工具以及与疾病相关的特征关联的数据库，可用于研究病理联系和治疗机制^[15-17]。将 DEGs 与热毒证相关基因取交集得到脓毒症热毒证相关基因，即脓毒症毒态相关基因；将 DEGs 与血瘀证相关基因取交集得到脓毒症血瘀证相关基因，即脓毒症瘀态相关基因；将 DEGs 与气虚证相

关基因取交集得到脓毒症气虚证相关基因,即脓毒症虚态相关基因。

1.3 脓毒症态靶相关基因的生物学功能分析

将脓毒症毒态/瘀态/虚态相关基因分别提交至 STRING 数据库 (<http://cn.string-db.org/>),构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络,以置信度 0.40 为筛选标准。使用 igraph 包构建 PPI 网络结构,随后根据网络连接度使用随机游走算法 (walktrap community) 构建网络模块,将功能相似的基因进行聚类,得到密切相互作用的关键模块基因^[18]。通过基因本体论的生物学过程 (biological processes of gene ontology, GOBP) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 对关键模块基因进行功能富集分析, $P_{adj} < 0.05$ 被认为具有显著性。

1.4 脓毒症态靶相关细胞类型的鉴定

使用 AUCell 包定量评估每个细胞中特定基因集的活性^[19]。基于脓毒症毒态/瘀态/虚态相关基因,对脓毒症相关单细胞数据中的每个细胞进行打分并比较不同细胞类型对脓毒症毒态/瘀态/虚态的作用贡献,分别得到对脓毒症毒态/瘀态/虚态起主要作用的细胞类型,同时比较其在存活组、死亡组和正常组之间的评分差异^[16-17]。

1.5 脓毒症态靶相关细胞类型的生物学功能分析

基于上述分析得到对脓毒症毒态起主要作用的细胞类型,在脓毒症患者中进一步将其分为毒态高分细胞 (Dutai+) 和毒态低评分细胞 (Dutai-),瘀态同理。使用 FindAllMarkers 函数识别二者间的差异表达基因,GOBP 和 KEGG 富集分析探讨其参与的生物学过程及信号通路。使用基因集变异分析 (gene set variation analysis, GSVA) 包评估 Dutai+ 与 Dutai- 间信号通路活性,使用 limma 包进行差异分析。使用小提琴图可视化 Dutai+ 与 Dutai- 间关键基因的差异表达水平。针对脓毒症虚态起主要作用的细胞类型,使用 FindAllMarkers 函数识别死亡组 vs 正常组和存活组 vs 正常组的差异表达基因,随后通过韦恩图分析得到 2 次差异表达基因分析的共同下调基因,GOBP 和 KEGG 富集分析探讨其参与的生物学过程及信号通路。

1.6 脓毒症态靶预后模型及列线图的构建

单因素 Cox 分析是研究单一变量与生存时间、生存状态之间的关系,提供自变量与结局变量之间的危险比,用以评估自变量是否对结局变量存在保

护或危险作用。本研究采用单因素 Cox 分析用以筛选脓毒症态靶预后相关基因。然后使用最小绝对收缩和选择算子回归 (least absolute shrinkage and selection operator, LASSO) 构建脓毒症态靶预后模型。生存分析将模型的评分分为高、低 2 组, $P < 0.05$ 被认为具有显著性意义,并使用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC) 评估 7、14、28 d 生存率的预测能力。使用单因素 Cox 分析筛选预后相关因素,单因素和多因素 Cox 分析具有显著性水平的相关因素被认为是独立的预后危险因素,并构建列线图评估患者的总体生存情况。

1.7 动物实验验证脓毒症态靶预后相关基因的表达水平

1.7.1 仪器与试剂 锚蛋白重复结构域 9 (ankyrin repeat domain-containing protein 9, ANKRD9)、ADP-核糖基化因子样蛋白 4C (ADP ribosylation factor like GTPase 4C, ARL4C)、细胞色素 C 氧化酶亚基 7B (cytochrome C oxidase subunit 7B, COX7B)、真核翻译起始因子 2 亚基 γ (eukaryotic translation initiation factor 2 subunit gamma, EIF2S3)、弗林蛋白酶 (paired basic amino acid cleaving enzyme, FURIN)、立即早期反应 3 (immediate early response 3, IER3)、白细胞介素-1 受体 2 型 (interleukin-1 receptor type 2, IL1R2) 和 LSM1 同源物 (LSM1 Homolog, LSM1) PCR 引物由美国 Invitrogen 公司设计合成;脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS, 批号 L2630) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司。RNA 抽提试剂盒、反转录试剂盒 (批号 A0010CGQ) 购自 EZBioscience 公司。TRIzol 试剂 (批号 15596018CN) 购自美国 Invitrogen 公司。预混 ROX2 型彩色染料法定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 试剂盒 (批号 A0012-R2) 购自美国 EZBioscience 公司。ViiA7 荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司)。

1.7.2 脓毒症小鼠模型制备 20 只 SPF 级 C57BL/6J 小鼠,6~8 周龄,体质量 (20 ± 2) g, 购自广东维通利华有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK (粤) 2022-0063。相对湿度 $(55 \pm 2)\%$, 12 h 光照/12 h 黑暗循环。所有动物相关实验均按广州中医药大学实验动物伦理委员会批准方案进行 (动物实验伦理编号 ZYD-2025-114)。小鼠适应性饲养 1 周后,将 20 只小鼠随机分为正常组与模型组,依据文献方法^[20],采用 LPS 建立小鼠脓毒症模型,模型组 ip LPS (20 mg/kg),正常组 ip 等剂量生理

盐水, 每 12 h 观察小鼠生存状态, 并记录小鼠体温。小鼠注射 LPS 后出现寒战、呼吸频率加快、活动力降低、毛发耸立、解稀水样粪便等症状即为造模成功。造模 24 h 后, 对小鼠进行安乐死, 眼球取血, 收集血液分离血清和 PBMC。

1.7.3 实时聚合酶链反应 (real-time polymerase chain reaction, RT-PCR) 分析 RT-PCR 检测脓毒症态靶预后相关基因在脓毒症小鼠模型 PBMC 中的表达水平。采用 TRIzol 试剂从 PBMC 提取总 RNA, 根据说明书进行逆转录; 使用彩色染料法 qPCR 试剂盒按照 10 μ L 体系进行循环扩增, 引物序列见表 1。通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法测定相对 mRNA 表达水平, 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase, *GAPDH*) 为内参基因。

1.8 逆向网络药理学筛选脓毒症态靶病理机制的靶向中药

基于上述分析分别得到对脓毒症毒态/瘀态/虚态起主要作用细胞类型的关键基因, 将其提交至中药分子机制生物信息学分析工具数据库 (bioinformatics analysis tool for molecular mechanism of traditional Chinese medicine, BATMAN-TCM, <http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm>) 进行逆向网络药理学分析, 设置参数 confidence score=0.66, 筛选得到作用上述脓毒症态靶相关基因的靶向中药^[21]。BATMAN-TCM 旨在存储中药成分和靶蛋白之间已

知和预测的联系, 专门用于探索中医药的药理机制, 并确定治疗疾病的活性成分。BATMAN-TCM 可以作为一种探索性资源, 包括高覆盖率的中药成分-靶蛋白相互作用, 有助于快速检索和理解中药成分和靶蛋白之间的关系, 同时探索中药成分的靶蛋白^[21]。

1.9 分子对接验证中药活性成分与脓毒症态靶预后相关基因的结合性能

中药血液吸收成分及代谢物数据库 (database of constituents absorbed into the blood and metabolites of traditional Chinese medicine, DCABM-TCM, <http://bionet.ncpsb.org.cn/dcabm-tcm/#/Home>), 是第 1 个系统收集中药方剂和草药血液成分的数据库^[22]。DCABM-TCM 从文献中手工挖掘出 194 种中药材和 192 种方剂的 1 816 种具有化学结构的入血成分, 并给出了检测血液成分的详细实验条件, 包括提取方法、实验动物和动物模型、给药方法和剂量、采血时间和地点等^[22]。为进一步明确潜在靶向中药发挥作用的关键活性成分, 基于 DCABM-TCM 检索得到潜在靶向中药的入血成分, 并通过查阅相关文献进一步筛选具有抗炎、抗凝或者调节免疫作用的代表性中药活性成分。随后通过分子对接评估中药活性成分与脓毒症态靶预后相关靶点之间的结合性能。RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 检索和下载脓毒症态靶预后相关靶蛋白的 3D 结构文件, PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载中药活性成分的 2D 结构文件。Autodock Vinahe 和 Autodock 分子对接软件评价与验证结果。

1.10 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行数据分析, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 被认为具有统计学差异。

2 结果

2.1 脓毒症态靶相关基因的鉴定

共鉴定出脓毒症 DEGs 3 757 个, 其中上调基因 2 539 个, 下调基因 1 218 个, 将 DEGs 与毒态相关基因取交集得到 70 个脓毒症毒态相关基因, 将 DEGs 与瘀态相关基因取交集得到 67 个脓毒症瘀态相关基因, 将 DEGs 与虚态相关基因取交集得到 54 个脓毒症虚态相关基因, 见图 1。

2.2 脓毒症态靶相关基因的生物功能分析

70 个脓毒症毒态相关基因聚类得到 26 个基因模块, 见图 2-A (三角形表示上调基因, 四方形表示下调基因)。密切相互作用的关键模块基因显著

表 1 基因引物序列

Table 1 Primer sequences of genes

基因	序列 (5'-3')
<i>ANKRD9</i>	F: TCTAGCACAGGTTGGTCTG R: AAGGCGAAGGATGACTTCC
<i>ARL4C</i>	F: AATTGAGAAACCCAGTCCC R: CATCGTTGGAATTAACAGCTC
<i>COX7B</i>	F: TAAGCCGTCTCCAAGTTCG R: AACTAGGTGCCCTCTTCTG
<i>EIF2S3</i>	F: CGCCACATTGGATGTTACC R: ACTTCCCATGAGCTACGTG
<i>FURIN</i>	F: CACAGAGCAGTGACAAAGC R: GCCACTTTACTTGAGGCTC
<i>IER3</i>	F: GTTTGAACACTTCTCGCGG R: CTTGGCAATGTTGGGTTCC
<i>IL1R2</i>	F: GTGGACAAGGAAGTGTGAG R: GCCTGCGTGTTTACAAGAC
<i>LSM1</i>	F: ACTAGGAGAAATAGACCTGGAG R: ACCCTCTGTTCTCTAGGA
<i>GAPDH</i>	F: AAGAGGGATGCTGCCCTTAC R: TACGGCCAAATCCGTTTACA

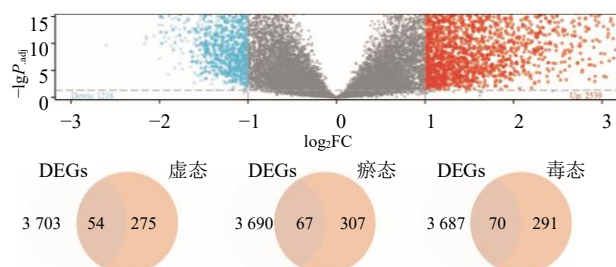


图 1 差异基因的火山图及交集基因的韦恩图

Fig. 1 Volcano plot of differentially expressed genes and Venn diagram of overlapping genes

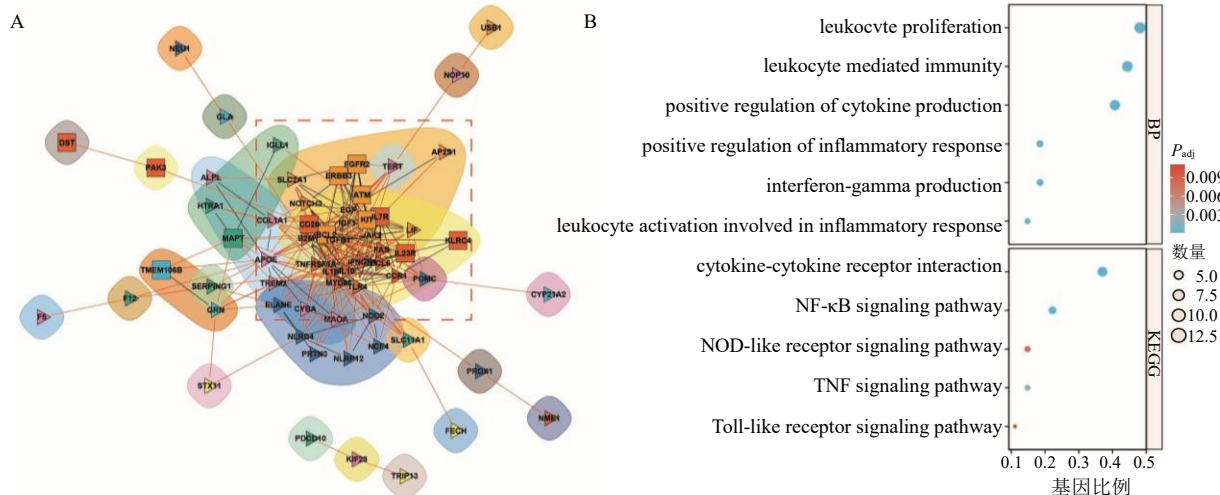


图 2 脓毒症毒态相关基因的聚类互作网络 (A) 及关键模块基因的功能富集分析 (B)

Fig. 2 Clustering interaction network of genes related to “toxic state” of sepsis (A) and functional enrichment analysis of key module genes (B)

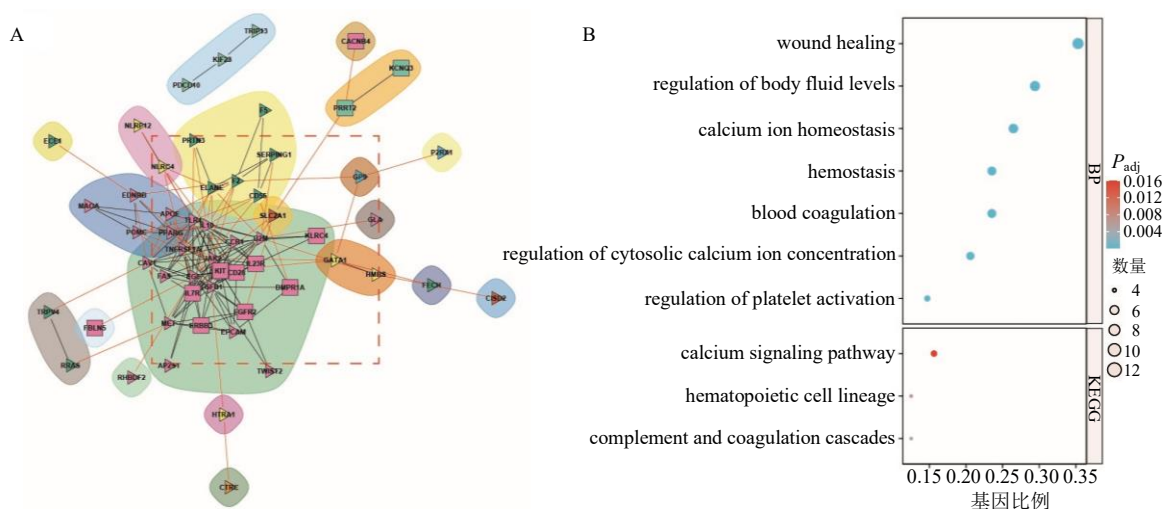


图 3 脓毒症瘀态相关基因的聚类互作网络 (A) 及关键模块基因的功能富集分析 (B)

Fig. 3 Clustering interaction network of genes related to “stasis state” of sepsis (A) and functional enrichment analysis of key module genes (B)

血、血小板活化的调节、钙离子稳态、钙离子浓度的调节、补体和凝血级联反应、造血细胞谱系、钙

信号通路等凝血相关生物学过程及信号通路，见图 3-B。

54 个脓毒症虚态相关基因聚类得到 14 个基因模块，见图 4-A。密切相互作用的关键模块基因显著富集在对细菌防御反应、细胞焦亡、自噬的调控、坏死性凋亡、细胞凋亡、Janus 激酶-信号传导和转录激活蛋白 (Janus kinase-signal transducer and

activator of transcription, JAK-STAT) 信号通路、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B, PI3K-Akt) 信号通路等细胞稳态相关生物学过程及信号通路，见图 4-B。

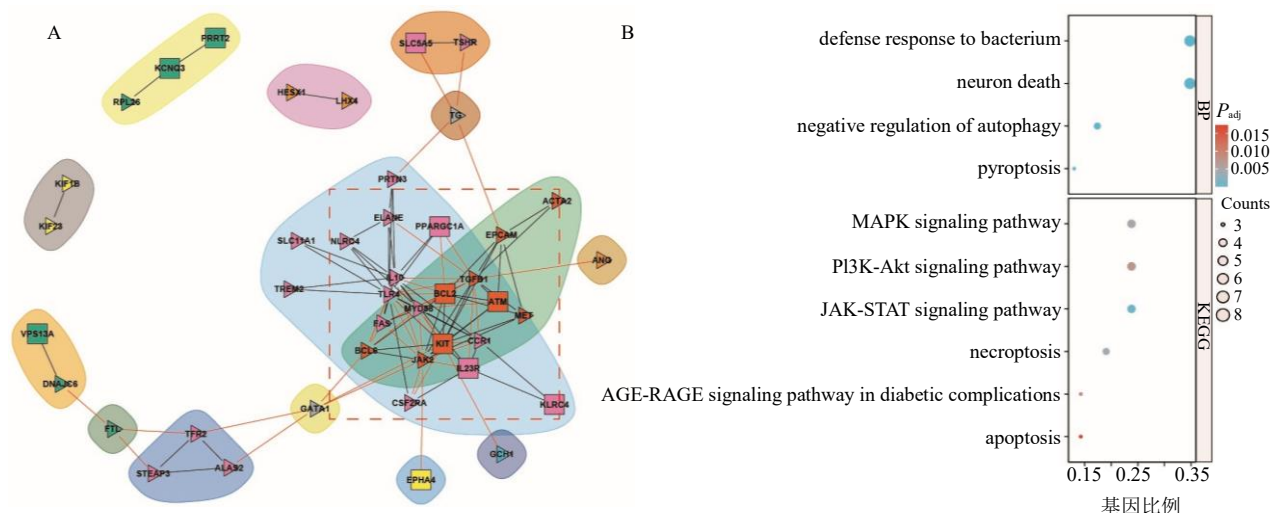


图 4 脓毒症虚态相关基因的聚类互作网络 (A) 及关键模块基因的功能富集分析 (B)

Fig. 4 Clustering interaction network of genes related to “deficiency state” of sepsis (A) and functional enrichment analysis of key module genes (B)

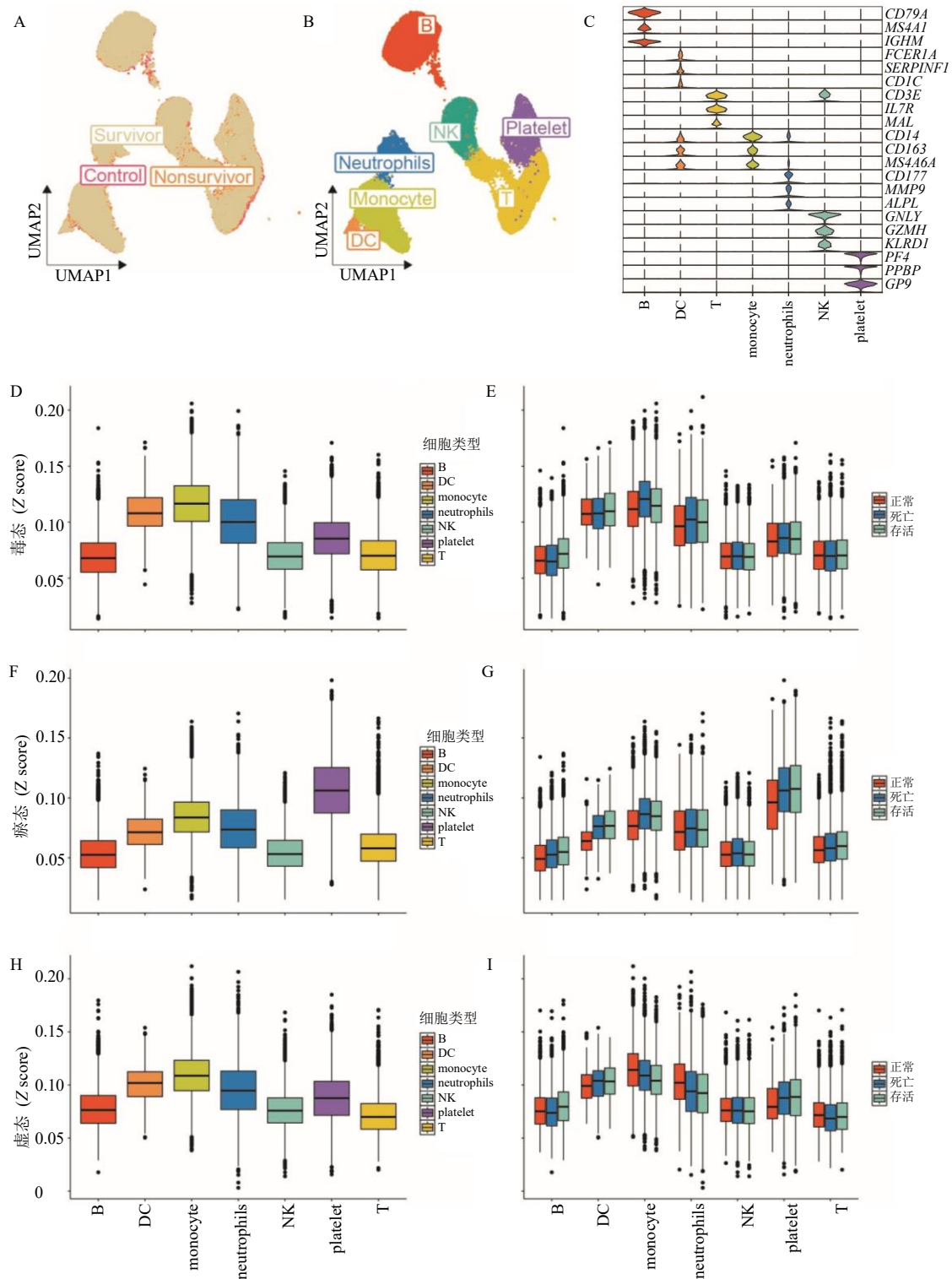
2.3 脓毒症靶相关细胞类型的鉴定

通过质量控制排除低质量细胞后，选择 57 964 个细胞用于后续分析，见图 5-A。通过 UMAP 算法对细胞进行聚类得到 19 个细胞簇，进一步注释得到 7 种细胞类型：B 细胞 (B)、T 细胞 (T)、单核细胞 (monocyte)、血小板 (platelet)、自然杀伤细胞 (natural killer cells, NK)、中性粒细胞 (neutrophils)、树突细胞 (dendritic cells, DC)，见图 5-B、C。AUCell 评分显示，单核细胞对脓毒症毒态作用评分最高 (图 5-D)，相对于正常组，存活组和死亡组的毒态作用评分更高，且死亡组高于存活组 (图 5-E)，推测单核细胞功能活化可能是脓毒症毒态的主要病理机制。血小板对脓毒症瘀态作用评分最高 (图 5-F)，且相对于正常组，存活组和死亡组的瘀态作用评分更高 (图 5-G)，推测血小板功能活化可能是脓毒症瘀态的主要病理机制。单核细胞对脓毒症虚态作用评分最高 (图 5-H)，然而相对于正常组，存活组和死亡组的虚态作用评分更低 (图 5-I)，推测单核细胞功能紊乱可能是脓毒症虚态的主要病理机制。

2.4 脓毒症靶相关细胞类型的生物学功能分析

在脓毒症患者中根据毒态评分将单核细胞分

为毒态高评分单核细胞 (Dutai+monocyte) 和毒态低评分单核细胞 (Dutai-monocyte)，差异表达基因分析显示，相对于 Dutai-monocyte、Dutai+monocyte 中存在大量表达上调的基因，包括单核细胞分化抗原 CD14 (monocyte differentiation antigen CD14, CD14)、S100 钙结合蛋白 A9 (S100 calcium binding protein A9, S100A9)、髓样分化蛋白 88 (myeloid differentiation primary response 88, MYD88)、IL1B 等，类似于炎症激活的经典单核细胞，见图 6-A。功能富集分析显示，它们显著富集在白细胞活化参与免疫反应、炎症反应的调节、IL-6 的产生、核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD) 样受体信号通路、抗原处理和呈递、NF- κ B 信号通路、缺氧诱导因子 1 信号通路等炎症免疫反应相关生物学过程及信号通路，见图 6-B。GSVA 信号通路活性及差异分析显示，Dutai+monocyte 中存在多条活性上调的炎症反应相关信号通路，包括 NOD 样受体信号通路、TLRs 信号通路等，与前面结果相符；同时多条代谢相关信号通路在 Dutai+monocyte 中活性上调，包括柠檬酸循环、半乳糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢、脂肪酸代谢、糖酵解等，见图 6-C、D。

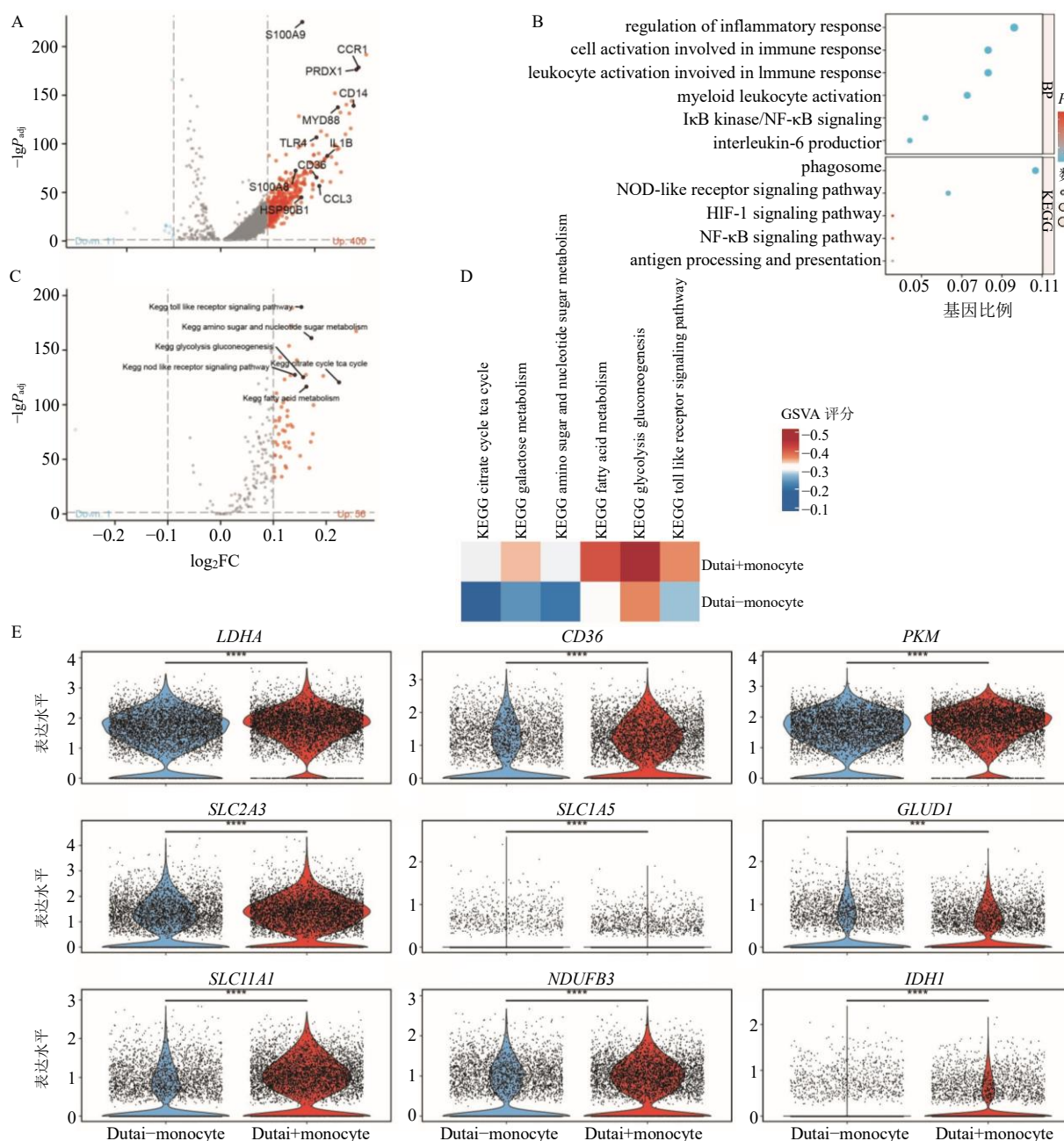


A、B-脓毒症存活组、脓毒症死亡组和正常对照组外周血单细胞测序的 UMP 细胞图谱；C-细胞亚群特征基因的表达分布；D、E-脓毒症毒态作用活性的细胞类型特异性评分及组间比较；F、G-脓毒症瘀态相关作用活性的细胞类型特异性评分及组间比较；H、I-脓毒症虚态相关作用活性的细胞类型特异性评分及组间比较。

A, B-UMP cell maps of peripheral blood single-cell sequencing in survival group, non-survival group, and control group; C-expression distribution of characteristic genes in cell subpopulations; D, E-cell type specific scoring and inter group comparison of "toxic state" of sepsis; F, G-cell type specific scoring and inter group comparison of "stasis state" of sepsis; H, I-cell type specific scoring and inter group comparison of "deficiency state" of sepsis.

图 5 脓毒症态靶相关细胞类型的鉴定

Fig. 5 Identification of cell types related to "state and target" of sepsis



A、B-毒态高分单核细胞与毒态低评分单核细胞间的差异表达基因及功能富集分析；C、D-毒态高分单核细胞与毒态低评分单核细胞间的信号通路活性差异；E-毒态高分单核细胞与毒态低评分单核细胞间的基因表达水平差异；*** $P < 0.001$ **** $P < 0.0001$ ，下图同。

A, B-differentially expressed genes and functional enrichment analysis between Dutai+monocyte and Dutai-monocyte; C, D-differences in signaling pathway activity between Dutai+monocyte and Dutai-monocyte; E-differences in gene expression levels between Dutai+monocyte and Dutai-monocyte; *** $P < 0.001$ **** $P < 0.0001$, same as below figures.

图 6 脓毒症毒态单核细胞差异表达基因的生物功能分析

Fig. 6 Analysis of biological functions of differentially expressed genes in monocytes of sepsis toxic state

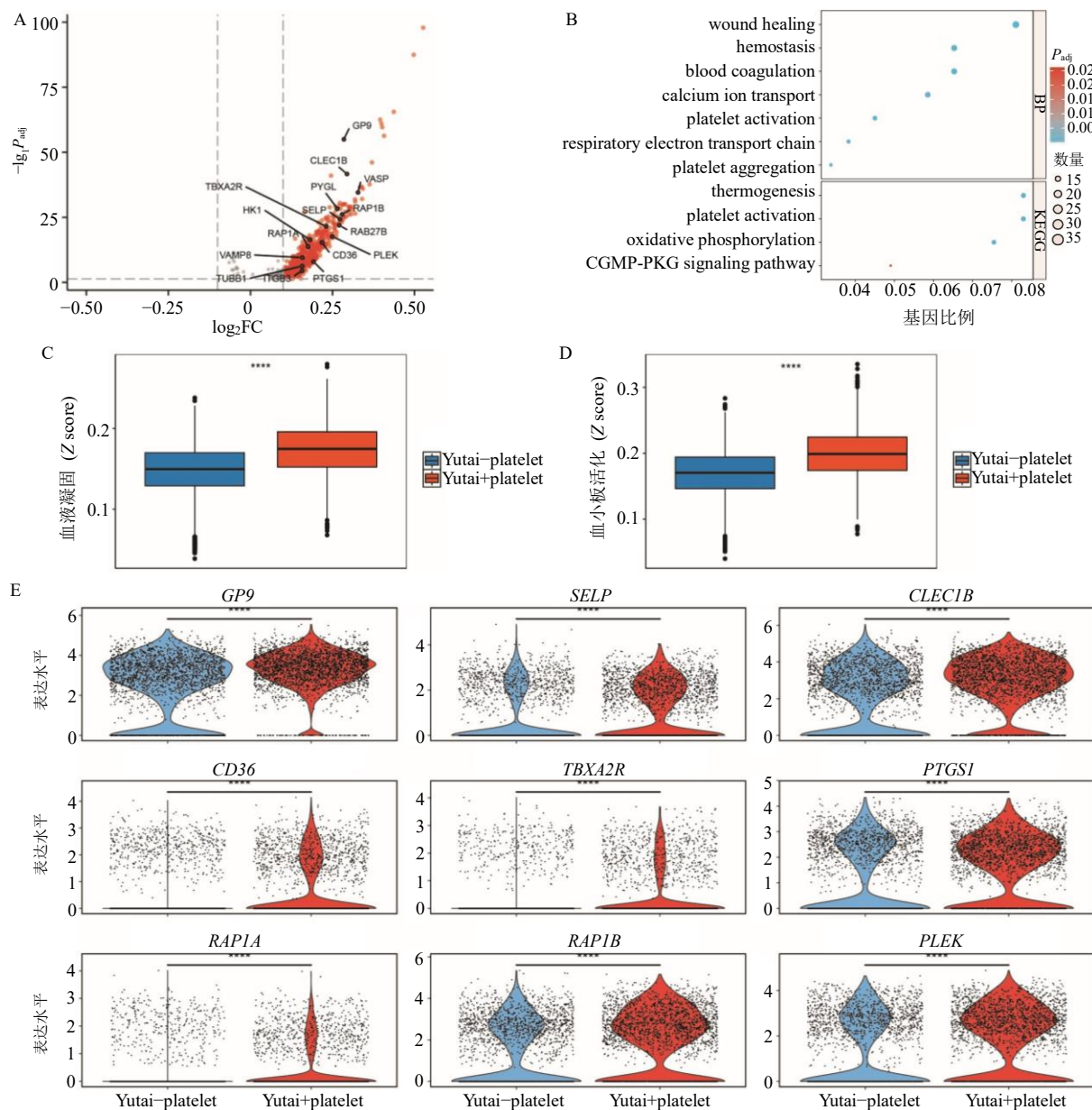
小提琴图显示，多个代谢相关关键基因在 Dutai+monocyte 中的表达水平显著升高，见图 6-E；乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase A, LDHA)、丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PKM)、溶质载体家族 2 成员 3 (solute carrier family 2, facilitated glucose

transporter member 3, SLC2A3) 等与糖代谢有关，溶质载体家族 1 成员 5 (solute carrier family 1 member5, SLC1A5)、谷氨酸脱氢酶 1 (glutamate dehydrogenase 1, GLUD1) 等与氨基酸代谢有关，CD36 分子 (CD36 molecule, CD36) 等与脂质代谢

有关, NADH:泛醌氧化还原酶亚基 B3 (NADH:ubiquinone oxidoreductase subunit B3, NDUFB3) 等与线粒体呼吸链有关, 异柠檬酸脱氢酶 1 [isocitrate dehydrogenase 1, IDH1] 与氧化还原和三羧酸循环有关, 溶质载体家族 11 成员 1 (solute carrier family 11 member 1, SLC11A1) 与铁离子转运代谢和免疫调节有关。综上, 推测单核细胞代谢重编程驱动下的炎症反应激活可能是脓毒症毒态的主要病理机制。

在脓症患者中根据瘀态评分将血小板分为

瘀态高评分血小板 (Yutai+platelet) 和瘀态低评分血小板 (Yutai-platelet), 差异表达基因分析显示, 相对于 Yutai-platelet, Yutai+platelet 中存在大量表达上调的基因, 包括糖蛋白 IX 血小板 (glycoprotein IX platelet, *GP9*)、选择素 P (selectin P, *SELP*)、C 型凝集素结构域家族 1 成员 B (C-type lectin domain family 1 member B, *CLEC1B*) 等血小板活化与凝血/血栓形成相关基因, 见图 7-A; GO 及 KEGG 分析显示, 它们显著富集在血液凝固、止血、



A、B-瘀态高评分血小板与瘀态低评分血小板间的差异表达基因及功能富集分析; C、D-瘀态高评分血小板与瘀态低评分血小板间的信号通路活性差异; E-瘀态高评分血小板与瘀态低评分血小板间的基因表达水平差异。

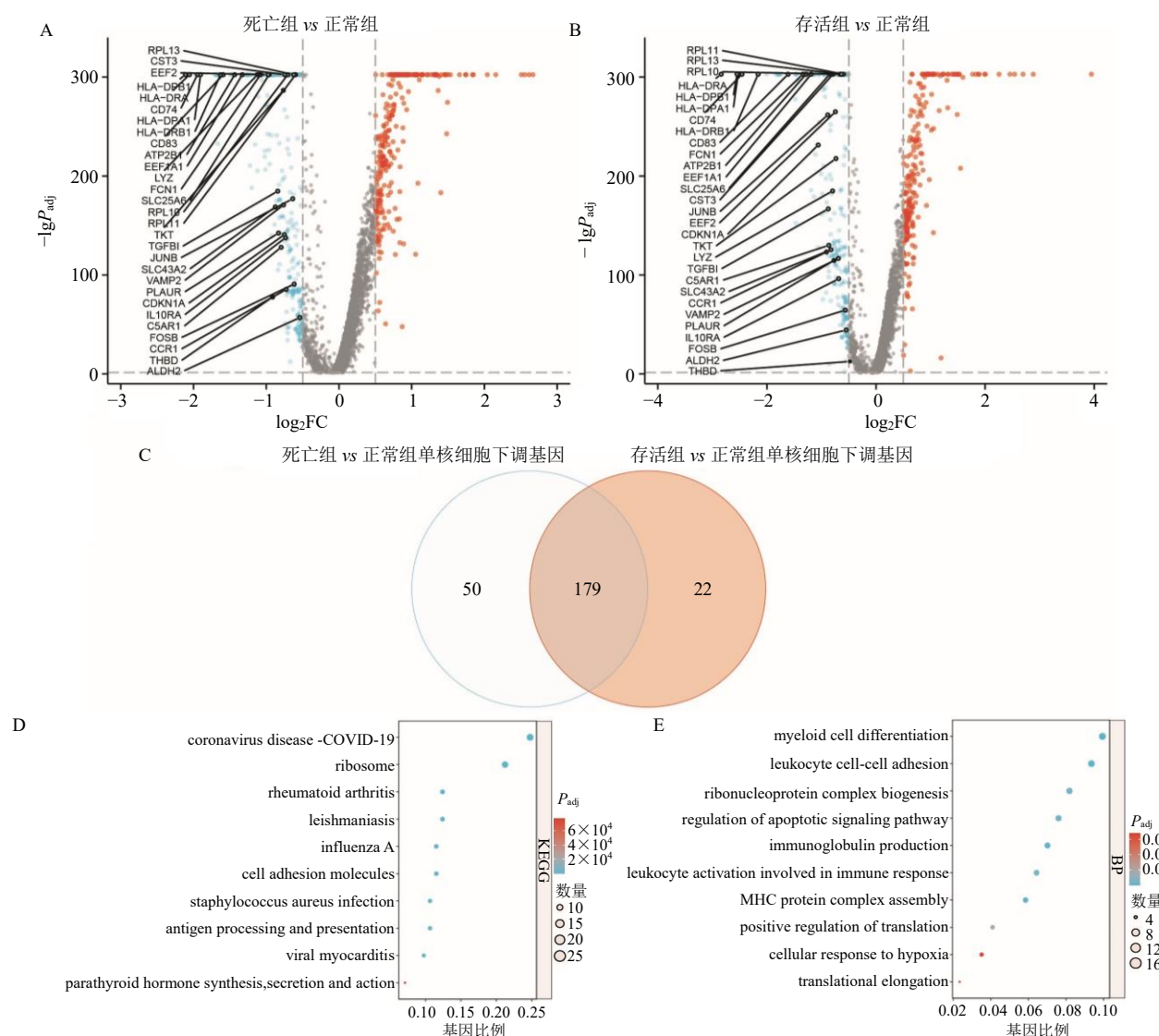
A, B-differentially expressed genes and functional enrichment analysis between Yutai+platelet and Yutai-platelet; C, D-differences in signaling pathway activity between Yutai+platelet and Yutai-platelet; E-differences in gene expression levels between Yutai+platelet and Yutai-platelet.

图 7 脓毒症瘀态血小板差异表达基因的生物功能分析

Fig. 7 Analysis of biological functions of differentially expressed genes in platelet of sepsis stasis state

血小板活化、伤口愈合、血小板聚集、呼吸电子传递链、钙离子迁移、血小板活化、氧化磷酸化等生物学过程及信号通路,见图 7-B。AUCell 评分结果显示,相对于 Yutai+platelet, Yutai+platelet 的血液凝固与血小板活化评分显著上调,与上述结果相符,见图 7-C、D。小提琴图显示,多个血小板活化与凝血/血栓形成相关关键基因在 Yutai+platelet 中的表达水平显著升高,见图 7-E。综上,推测血小板活化-凝血/血栓形成可能是脓毒症瘵态的主要病理机制。

相对于正常组,存活组和死亡组的虚态作用评分更低,提示单核细胞功能紊乱可能是脓毒症虚态的主要病理机制,虚态常表现为基因表达水平下调、细胞活性低下和免疫功能不足,因此接下来重点关注单核细胞在脓毒症组与正常组间的基因表达差异。差异表达基因分析显示,脓毒症患者体内单核细胞存在大量表达下调的基因,见图 8-A、B,如主要组织相容性复合体 DR α (major histocompatibility complex DR alpha, HLA-DRA)、CD74 分子 (CD74 molecule, CD74)、CD83 分子



A-死亡组 vs 正常组的差异表达基因; B-存活组 vs 正常组的差异表达基因; C~E-死亡组 vs 正常组与存活组 vs 正常组的共同下调基因及功能富集分析。

A-differentially expressed genes between nonsurvival group and normal group; B-differentially expressed genes between survival group and normal group; C—E-analysis of commonly down-regulated genes and functional enrichment between nonsurvival group vs normal group and survival group vs normal group.

图 8 脓毒症组与正常组间单核细胞的差异表达基因及功能富集分析

Fig. 8 Analysis of differentially expressed genes in monocytes between sepsis group and normal group and functional enrichment

(CD83 molecule, CD83) 等与主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) II 类分子介导的抗原呈递有关, 白细胞介素-10 受体亚基 α (interleukin-10 receptor subunit alpha, IL10RA)、C-C 趋化因子受体 1 (C-C motif chemokine receptor 1, CCR1)、转化生长因子 β 诱导 (transforming growth factor beta induced, TGFBI) 等与炎症信号转导与反馈抑制有关, 溶质载体家族 25 成员 6 (solute carrier family 25 member 6, SLC25A6)、质膜钙转运 ATP 酶 1 (ATPase plasma membrane Ca^{2+} transporting 1, ATP2B1)、转酮酶 (transketolase, TKT) 等与细胞能量代谢有关, 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (cyclin dependent kinase inhibitor 1A, CDKN1A)、B 细胞易位基因 1 (B-cell translocation gene 1, anti-proliferative, BTG1)、JunB 原癌基因 AP-1 转录因子亚基 (JunB proto-oncogene, AP-1 transcription factor subunit, JUNB) 等与细胞周期阻滞有关, 真核翻译延伸因子 1 α 1 (eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 1, EEF1A1)、真核翻译延伸因子 2 (eukaryotic translation elongation factor 2, EEF2)、核糖体大亚基蛋白 (ribosomal protein large subunit, RPL)/核糖体小亚基蛋白 (ribosomal protein small subunit, RPS) 核糖体蛋白家族等与蛋白质合成抑制有关。将 2 次差异表达基因分析得到的下调基因取交集, 得到共同下调基因 179 个, 见图 8-C。KEGG 分析显示, 它们显著富集在冠状病毒病—新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19)、类风湿性关节炎、甲型流感、金黄色葡萄球菌感染、抗原加工和呈递、病毒性心肌炎、甲状旁腺激素的合成、分泌和作用等信号通路, 见图 8-D; GOBP 分析显示, 它们显著富集在髓系细胞分化、核糖核蛋白复合物生物发生、凋亡信号通路的调节、免疫球蛋白生产、细胞对缺氧的反应、翻译延伸等生物学过程, 见图 8-E。综上, 推测单核细胞功能紊乱-免疫抑制可能是脓毒症虚态的主要病理机制。

2.5 脓毒症态靶预后模型及列线图的构建

基于 GSE65682 验证组的基因表达数据及临床预后数据, 对图 6-A 中的上调基因、图 7-A 中的上调基因和图 8-C 中的交集下调基因进行单因素 Cox 分析, 得到 20 个与 28 d 生存率显著相关的预后基因 (图 9-A), 并且它们在脓毒症组与正常组间的表达水平同训练组一致 (图 9-B)。进一步使用 LASSO

回归构建模型, 筛选出 8 个基因构建预后模型, 其模型公式为 $0.188\ 0 \times \text{ANKRD9} - 0.021\ 9 \times \text{ARL4C} + 0.195\ 4 \times \text{COX7B} - 0.001\ 7 \times \text{EIF2S3} + 0.112\ 0 \times \text{FURIN} + 0.119\ 2 \times \text{IER3} + 0.135\ 8 \times \text{IL1R2} + 0.042\ 0 \times \text{LSM1}$ 。根据模型风险评分将 479 例脓毒症患者分为低风险组和高风险组 (图 9-C), 结果显示, 风险评分越高, 脓毒症患者的生存时间越少 (图 9-D); 低风险评分组患者 28 d 生存率比高风险评分组高, 差异具有显著性意义 ($P < 0.001$, 图 9-E)。ROC 曲线显示, 预后模型具有良好的预测能力 (图 9-F)。单因素 Cox 分析结果显示风险评分和年龄是预后相关因素 (图 9-G)。进一步的多因素 Cox 分析结果表明风险评分和年龄是独立的预后危险因素 (图 9-H), 校准曲线图及列线图显示, 该风险预测模型对于脓毒症患者的总体生存情况具有良好的预测能力 (图 9-I、J)。单细胞水平的基因定位及表达水平分析进一步验证了上述分析结果 (图 9-K)。进一步地, 单基因高、低表达组的 28 d 生存率分析显示, 8 个基因构建的预后模型中有 7 个基因与脓毒症 28 d 生存率呈现出显著关系: 高表达 *ANKRD9*、*COX7B*、*IER3*、*IL1R2* 和 *LSM1* 的脓毒症患者呈现出更低的 28 d 生存率, 高表达 *ARL4C* 和 *EIF2S3* 的脓毒症患者呈现出更高的 28 d 生存率 (图 10)。

2.6 动物实验验证脓毒症态靶预后相关基因的表达水平

成功复制出脓毒症小鼠模型^[20]。RT-PCR 结果显示, *ANKRD9*、*COX7B*、*IER3*、*IL1R2*、*FURIN* 和 *LSM1* 在脓毒症小鼠模型 PBMC 中表达显著升高 ($P < 0.000\ 1$), 而 *ARL4C* 和 *EIF2S3* 表达水平显著降低 ($P < 0.001$ 、 $0.000\ 1$), 见图 11, 与上述分析结果一致。

2.7 逆向网络药理学筛选脓毒症态靶病理机制的靶向中药及活性成分

将图 6-A 中的上调基因提交至 BATMAN-TCM 数据库进行逆向网络药理学分析, 筛选得到黄柏、虎杖、赤芍、柴胡、马齿苋、大黄、金银花、栀子、桑叶、芦荟、蒲公英等具有清热解毒功效的靶向中药, 见图 12, 通过 DCABM-TCM 数据库得到上述中药的 167 个入血活性成分, 进一步筛选出 9 个代表性入血活性成分 [金丝桃苷 (hyperoside)、大黄素 (emodin)、大黄酚 (chrysophanol)、丁香酸 (syringic acid)、芹菜素 (apigenin)、大黄酸 (rhein)、丹皮酚 (paeonol)、山栀苷 (shanzhiside)、京尼平苷 (geniposide)] 进行分子对接。将图 7-A 中的上

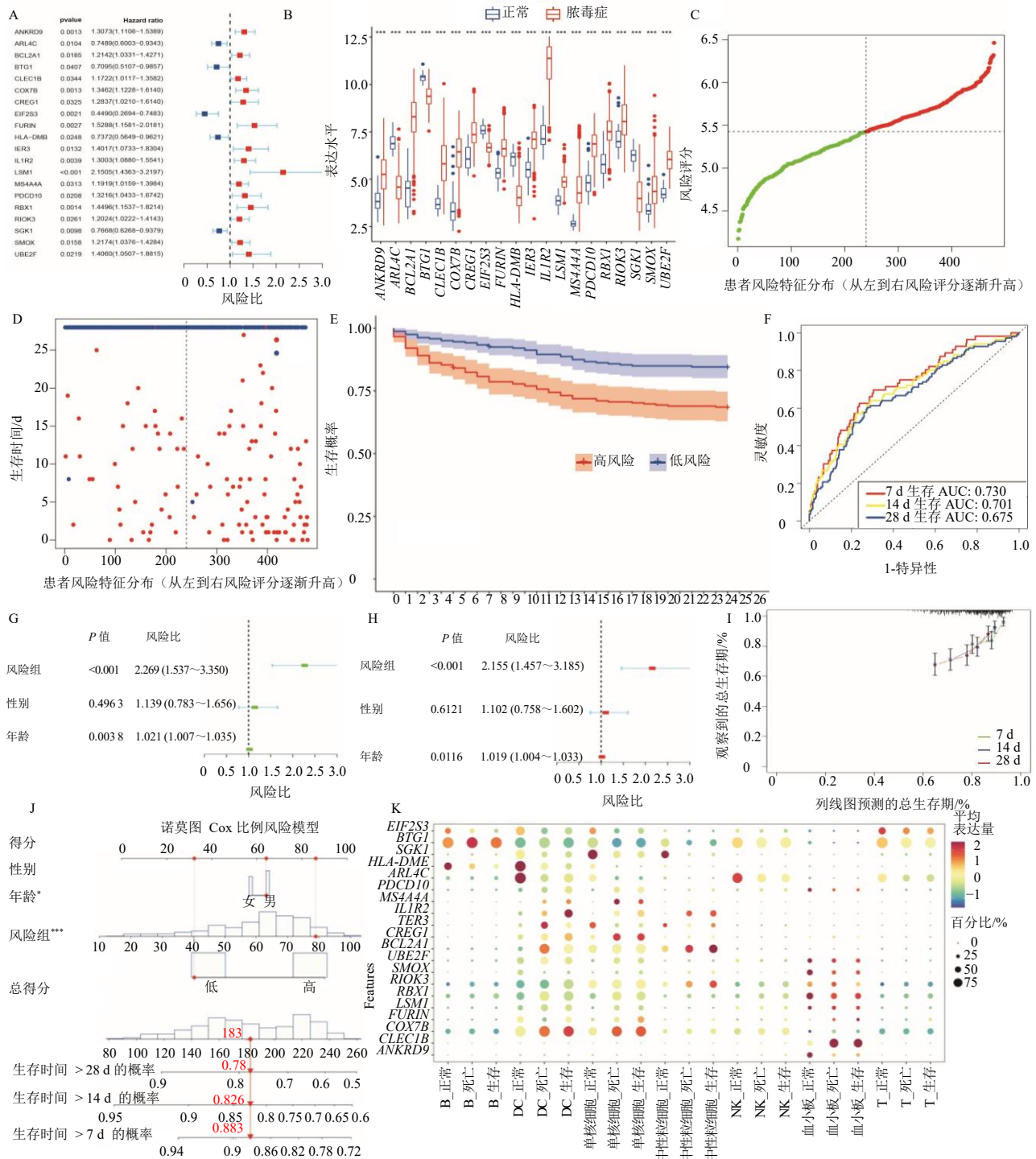


图9 脓毒症靶预后模型及列线图的构建

Fig. 9 Construction of prognostic model and nomogram for "state and target" of sepsis

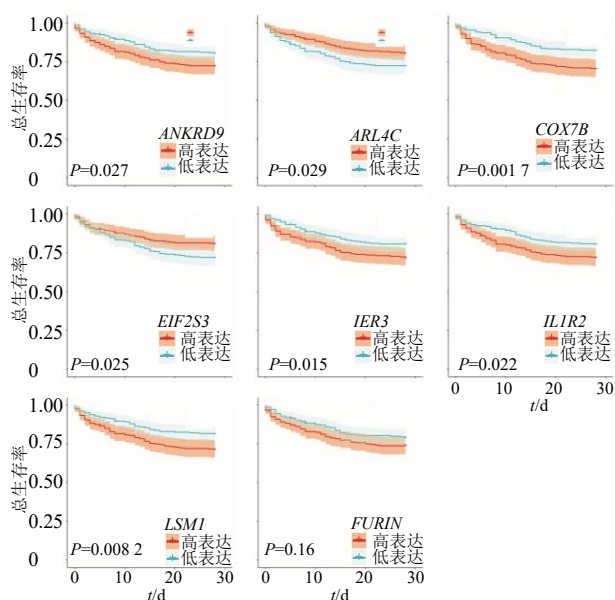


图 10 单基因高低表达组与 28 d 生存率的生存分析

Fig. 10 Survival analysis of single-gene high and low expression groups and 28 d survival rates

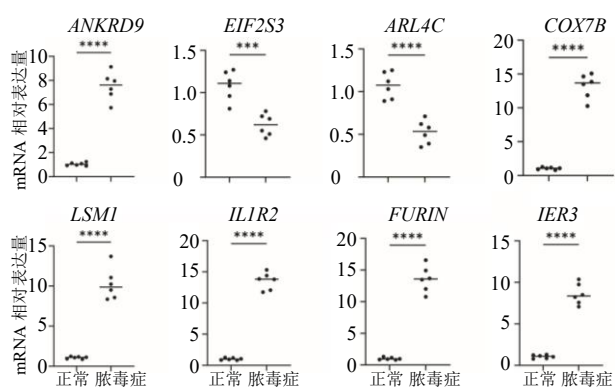


图 11 脓毒症靶预后相关基因在脓毒症小鼠模型 PBMC 中的表达差异

Fig. 11 Expression differences of sepsis-related "state and target" prognostic genes in PBMCs of sepsis mouse model

调基因提交至 BATMAN-TCM 数据库进行逆向网络药理学分析,筛选得到益母草、姜黄、穿山龙、虎杖、当归、赤芍、月季花、川芎、大黄、沙棘等具有活血化瘀功效的靶向中药,见图 13,通过 DCABM-TCM 数据库得到上述中药的 95 个入血活性成分,进一步筛选出 6 个代表性入血活性成分 [阿魏酸 (ferulic acid)、绿原酸 (chlorogenic acid)、咖啡酸 (caffeic acid)、新蛇床内酯 (neocnidilide)、洋川芎内酯 H (senkyunolide H)、芍药苷 (paeoniflorin)] 进行分子对接。将图 8-C 中的交集下调基因提交至 BATMAN-TCM 数据库

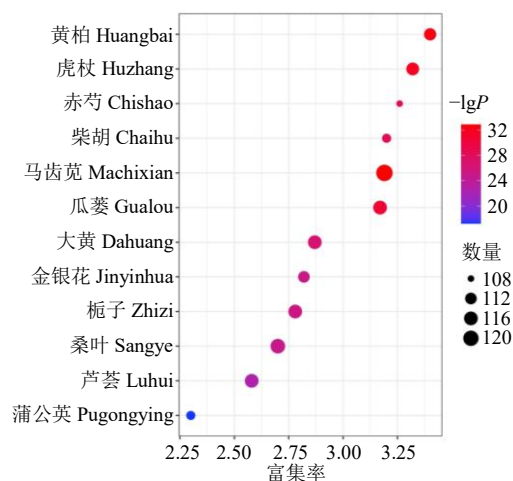


图 12 逆向网络药理学筛选脓毒症毒态病理机制的靶向中药

Fig. 12 Screening of targeted traditional Chinese medicines for "toxic state" pathological mechanism of sepsis through reverse network pharmacology

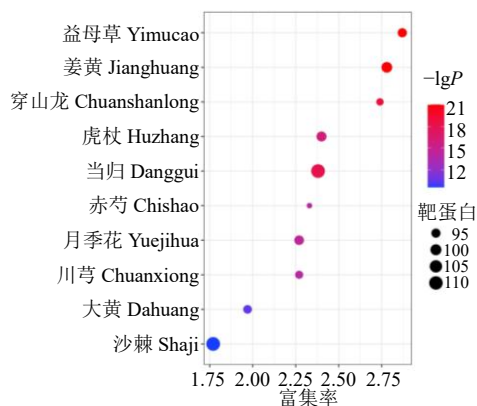


图 13 逆向网络药理学筛选脓毒症瘀态病理机制的靶向中药

Fig. 13 Screening of targeted traditional Chinese medicines for "stasis state" pathological mechanism of sepsis through reverse network pharmacology

进行逆向网络药理学分析,筛选得到紫河车、黑芝麻、黑豆、山药、枸杞子、云芝、人参等具有补益扶正功效的靶向中药,见图 14,通过 DCABM-TCM 数据库得到上述中药的 45 个入血活性成分,进一步筛选出 4 个代表性入血活性成分 [灵芝酸 f (ganoderic acid f)、灵芝酸 a (ganoderic acid a)、青姜苷 r1 (zingibroside r1)、人参皂苷 Rg₂ (ginsenoside Rg₂)] 进行分子对接。分子对接结果显示,代表性活性成分与预后相关靶点的结合效果良好,结合能普遍小于 -5 kcal/mol (1 kcal=4.2 kJ),其中大黄素、大黄酚、灵芝酸 a、灵芝酸 f、青姜苷 r1、人参皂苷 Rg₂ 与预后相关靶点的整体结合能较低,可能是作用于预后相关靶点的关键活性成分,见图 15。

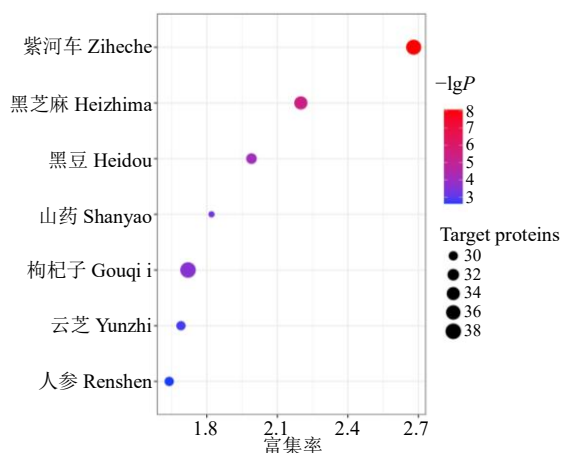


图 14 逆向网络药理学筛选脓毒症虚态病理机制的靶向中药

Fig. 14 Screening of targeted traditional Chinese medicines for “deficiency state” pathological mechanism of sepsis through reverse network pharmacology

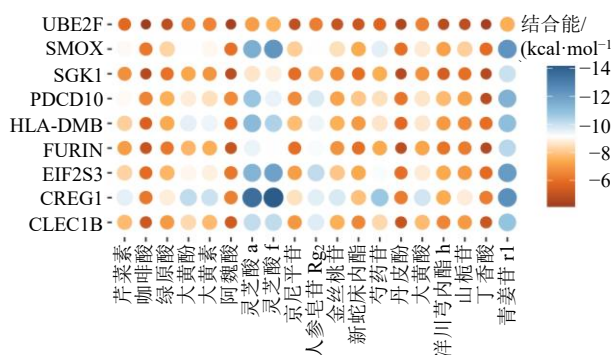


图 15 中药活性成分与预后相关靶点的分子对接结果

Fig. 15 Molecular docking results of active components with prognostic targets

3 讨论

3.1 单核细胞代谢重编程-炎症反应与脓毒症毒态的病理关联

脓毒症“毒态”常见于脓毒症初期正气未虚之时，机体免疫力较强，属于正盛邪实的窗口期。在脓毒症初期，中医所言的“正气未虚”状态对应现代医学中免疫系统代偿期，此时外感温热毒邪内侵，卫气奋起抗邪，正邪交争剧烈，导致气血两燔、邪热壅盛的病理状态，患者临床症状表现为高热、烦躁、舌红绛、脉数等“热毒炽盛”证候^[23-24]。作为机体抵御病原体入侵的第一道防线，单核细胞是脓毒症固有免疫调节的主要细胞之一，其细胞代谢调控是脓毒症免疫调控的关键环节^[25]。单核细胞可归属中医“卫气”范畴，是抵御外邪的第一道防线，在脓

毒症初期，单核细胞作为先天免疫的核心效应细胞，其固有免疫通过模式识别受体识别病原体相关分子模式或损伤相关分子模式，进一步激活下游信号通路，导致促炎因子的爆发性释放，形成细胞因子风暴。细胞代谢供能途径改变称为“代谢重编程”，免疫细胞代谢重编程对免疫细胞生长、分化及其免疫应激效能的发挥至关重要，免疫细胞糖酵解不仅可以提供能量，还能为生物合成提供底物来源^[26]。代谢重编程为单核细胞活化提供能量和生物合成原料，支持其促炎表型，与热毒炽盛证的“邪盛正不虚”阶段相契合。本研究发现脓毒症毒态关键基因模块和 Dutai+单核细胞高表达基因均显著富集在炎症反应激活相关性生物学过程及信号通路，同时 Dutai+单核细胞展现出众多代谢途径活性上调，包括糖酵解、柠檬酸循环、脂肪酸代谢、半乳糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢等，提示单核细胞代谢重编程是介导过度炎症反应的重要环节，与脓毒症“毒态”的发生发展密切相关。单核细胞在脓毒症早期通过糖酵解增强上调快速供能，支持促炎因子的分泌，其核心是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）信号通路激活，进而促进 NF- κ B 等转录因子的表达，放大炎症反应^[27-28]。单核细胞在脓毒症中通过糖酵解快速供能，支持其迁移、吞噬和炎症因子分泌，符合中医“阳热亢盛”的高代谢状态^[28]。脂肪酸代谢增强可能促进炎症介质（如前列腺素 E₂）的合成，从而加剧炎症反应相关的组织损伤。脂肪酸代谢的关键分子 CD36 的上调可以促进脂质摄取，其代谢产物花生四烯酸可转化为前列腺素 E₂，进一步放大炎症信号^[29-30]。细胞表面糖基化修饰的改变（涉及半乳糖、氨基糖和核苷酸糖代谢）可影响免疫细胞的识别与黏附，进而促进炎症扩散，这与中医“毒邪流注”的特性有一定的相似性^[31]。总的来说，代谢重编程为单核细胞活化提供能量和生物合成原料，支持其促炎表型，与热毒炽盛证的“邪盛正不虚”阶段相契合。

3.2 血小板活化-凝血/血栓形成与脓毒症瘀态的病理关联

“瘀态”是脓毒症患者常见的中医证候，一由热毒煎熬营血致瘀，外感六淫疫毒或内生热毒炽盛，耗伤津液，使血液黏稠，导致“血受热则煎熬成块”，进而热毒与瘀血互结，阻塞脉络，临床常表现为皮肤瘀斑、出血、舌质紫绛等。二因正气虚损，血行

无力,脓毒症耗伤正气,尤以气虚为主,气为血帅,气虚则推动无力,致血行迟缓而瘀滞;热毒耗伤阴液,血液浓缩,脉络枯涩;病至后期,阳气衰微,寒凝血瘀。总之,脓毒症血瘀证的本质是“毒致瘀、虚致瘀、瘀致瘀”的恶性循环。热毒为始动因素,正气虚损是内在基础,瘀血既是病理产物又是加重病机的关键环节。作为脓毒症固有免疫防御的重要环节之一,血小板在脓毒症凝血功能障碍中发挥重要作用。血小板活化聚集并表达 P-选择素使局部感染灶微血管内形成以纤维蛋白为骨架,并包含血小板、白细胞的免疫微血栓,防止感染蔓延^[32-33]。然而,凝血系统过度激活引发的弥散性血管内凝血可使血管内纤维蛋白沉积,产生微血栓并引发弥漫性微血管床阻塞,可能导致多脏器功能障碍、皮肤坏死和休克,这与中医“热入血分,瘀热互结”阶段神昏谵语、身发紫斑的症状相契合^[34]。本研究发现脓毒症瘀态关键基因模块和 Yutai+血小板高表达基因均显著富集在凝血反应激活相关生物学过程及信号通路,同时 Yutai+血小板展现出众多凝血途径活性上调,包括血小板活化、血液凝固、止血、钙离子稳态与信号通路等,提示血小板过度活化是介导凝血/血栓形成的重要环节,与脓毒症“瘀态”的发生发展密切相关。脓毒症期间,在内毒素或炎性因子的刺激下,血管内皮细胞和单核细胞广泛表达组织因子,并在 Ca^{2+} 的作用下进一步促进凝血酶合成,组织因子、内毒素、凝血酶等均可导致血小板过度活化^[35-37]。除此之外,血小板胞内钙离子浓度的升高是血小板活化的起始因素之一, Ca^{2+} 可通过激活蛋白激酶 C 等间接导致血小板活化,或者形成钙离子结合蛋白复合体直接促进血小板活化^[37]。血小板活化后分泌凝血因子,促进凝集,激发内源性凝血系统,与纤维蛋白结合形成血栓,导致微循环障碍和组织坏死^[38],形成血小板活化-凝血-血栓形成的恶性循环,这与中医学中血瘀产生瘀血,瘀血又可进一步加剧血瘀的“旧血不去新血不来”理论有相似之处。总的来说,血小板活化是凝血/血栓形成的关键环节,与脓毒症瘀态密切相关。

3.3 单核细胞功能紊乱-免疫抑制与脓毒症虚态的病理关联

急性虚证是脓毒症中医辨证“三证三法”的核心病机之一,贯穿脓毒症整个病程,病程长。与一般虚证相比,急性虚证具有急、危、重、虚的特点^[39-40]。此外,脓毒症后期的持续炎症-免疫抑制-分解代谢

综合征(persistent inflammation immunosuppression catabolism syndrome, PICS)阶段尤以虚证为主^[41]。现代研究证实,脓毒症早期即存在免疫紊乱及继发免疫抑制,随着脓毒症的不断深入发展,机体免疫抑制加剧,免疫功能彻底紊乱,持续性的免疫抑制状态是脓毒症的主要死因^[42]。脓毒症发展到恢复期主要表现则以“正虚邪恋”为主,表现为气、血、阴、阳俱虚,机体仍处于免疫紊乱状态^[39]。单核细胞作为固有免疫细胞之一,可吞噬消化各类病原微生物,并摄取抗原提呈给淋巴细胞,参与适应性免疫应答,因而在脓毒症免疫调控中起到重要作用^[43]。本研究发现,单核细胞功能紊乱-免疫抑制可能是脓毒症虚态的主要病理机制,涉及 MHC II 类分子介导的抗原呈递、炎症信号转导与反馈抑制、细胞能量代谢、细胞周期阻滞、蛋白质合成抑制等生物学过程。最新研究证实,脓毒症和 PICS 患者中均存在明确的免疫功能障碍,包括单核细胞介导的先天免疫缺陷以及由于 B 和 T 细胞功能障碍导致的适应性免疫异常^[44]。单核细胞作为关键抗原呈递细胞,其 MHC II 类分子表达下调可能是脓毒症虚态的典型标志。Yao 等^[43]研究发现 $\text{HLA-DR}^{\text{low}}\text{S100}^{\text{high}}$ 单核细胞与脓毒症时的免疫抑制状态相关,抑制这类细胞功能可显著减轻脓毒症诱导的免疫抑制。此外,单核细胞内能量代谢相关基因如 *SLC25A6*、*ATP2B1*、*TKT* 等的表达下调,提示单核细胞存在线粒体氧化磷酸化功能受损,ATP 生成不足导致细胞活性下降。*SLC25A6* 是线粒体腺嘌呤核苷酸转位酶,在线粒体内膜介导 ATP/ADP 交换,维持细胞能量稳态^[45],脓毒症中线粒体功能障碍导致 ATP 合成减少,*SLC25A6* 表达下调可能进一步加剧能量危机,与器官衰竭相关。单核细胞中 *EEF1A1*、*EEF2* 等翻译延伸因子及 *RPL/RPS* 家族基因表达下调,提示单核细胞存在核糖体生物发生与蛋白质合成障碍,可能影响单核细胞正常的免疫应答^[46]。总的来说,单核细胞是贯穿脓毒症病程前后的关键免疫细胞,其功能紊乱介导的免疫抑制与脓毒症虚态密切相关。

3.4 8 个基因的模型可作为脓毒症态靶预后的风险预测模型

本研究结合基因表达数据和临床生存数据以构建脓毒症态靶预后的风险预测模型,结果显示,基于 8 个基因(*IL1R2*、*ARL4C*、*COX7B*、*EIF2S3*、*IER3*、*LSMI*、*FURIN* 和 *ANKRD9*)构建的脓毒症态靶预后模型具有良好的生存预后预测能力,动物

实验及 RT-PCR 验证了其表达水平。现有研究表明,脓毒症患者和脓毒症小鼠的血浆可溶性 *IL1R2* (*sIL1R2*) 水平升高,而且 *sIL1R2* 水平与 SOFA 评分间存在显著的正相关性^[47]。体内和体外脓毒症模型中 *ARL4C* 的敲除导致炎症反应加剧和预后恶化^[48]。*COX7B* 高表达与脓毒症患者中线粒体功能障碍密切相关,包括 ATP 生成减少和氧化应激增加。在 LPS 诱导的脓毒症模型中,*COX7B* 高表达伴随线粒体膜电位降低、ROS 增加和 ATP 生成减少,提示线粒体功能障碍^[49]。*EIF2S3* 基因编码真核翻译起始因子 2 的 γ 亚基,主要参与蛋白质合成过程,并在细胞应激反应中发挥重要作用^[50]。该研究发现 *EIF2S3* 在脓毒症患者的多种外周免疫细胞中表达下调,动物实验同样证明了这一点。在脓毒症进程中,免疫细胞常经历显著的代谢重编程,其功能状态与能量代谢密切相关。*EIF2S3* 介导的蛋白质翻译调控是细胞代谢的核心环节。*EIF2S3* 表达下调很可能影响免疫细胞在脓毒症应激下的有效蛋白质生产,进而影响其增殖、分化和效应功能,参与免疫抑制或过度炎症状态。*IER3* 是一种应激诱导基因,在应激条件下的细胞存活中起着至关重要的作用,包括增殖、DNA 修复、凋亡和分化。研究发现,*IER3* 在脓毒症心肌病中发挥重要作用,*IER3* 通过调节 NF- κ B 和核因子-红细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 影响炎症反应^[51]。*FURIN* 基因编码的弗林蛋白酶是一种在细胞内扮演着“精密分子剪刀”角色的蛋白酶,其通过切割细胞表面受体和信号分子,参与细胞内蛋白质的加工成熟,如凝血因子 VIII、血管紧张素原等^[52-53]。在病毒感染时,*FURIN* 能切割病毒表面糖蛋白,促进病毒与宿主细胞膜融合,助力病毒进入宿主细胞。*FURIN* 在感染性疾病中发挥重要作用^[52-53]。*LSM1* 基因编码的蛋白质是 *LSM1-7* 复合体的核心组成部分,属于 LSM 基因家族。*ANKRD9* 基因编码的蛋白质属于含有锚蛋白重复结构域的成员。本研究发现 *LSM1* 和 *ANKRD9* 在脓毒症中表达上调,生存分析表明,*LSM1* 和 *ANKRD9* 高表达与生存率降低有关。因此,*LSM1* 和 *ANKRD9* 表达下调可能对脓毒症有利,然而仍需要进一步的基础研究来探索其深入的病理机制。

3.5 脓毒症“毒、瘀、虚”三态的潜在靶向中药及活性成分

本研究基于态靶基因和逆向网络药理学,筛选出态靶机制的潜在靶向中药及其入血活性成分,分

子对接验证了代表性入血活性成分与预后靶点的结合性能。对于脓毒症毒态,其核心为 NF- κ B 激活的炎症反应放大,中药筛选结果多以具有清热解毒功效的药物为主,包括大黄、栀子、金银花、蒲公英等,与热毒炽盛证相契合。大黄性寒,味苦,具有推陈出新、荡涤胃肠、下瘀血之效,众多研究显示大黄提取物及单体成分具有显著的抗脓毒症作用^[54]。大黄酚通过抑制 NF- κ B、胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 通路、抑制炎症细胞因子和下调 TLR2/4 的表达发挥抗脓毒症作用^[54]。栀子性寒,味苦,其有效成分京平尼苷可提高脓毒症小鼠的存活率并降低血清中天冬氨酸氨基转移酶、丙氨酸氨基转移酶和促炎细胞因子的水平^[55]。对于脓毒症瘀态,其核心为血小板活化导致的凝血/血栓形成,临床表现与瘀血症有相通之处,中药筛选结果多以具有清热解毒功效的药物为主,包括当归、川芎、赤芍、虎杖等。当归性温,味甘、辛,其活性成分具有广泛的药理作用,在血液系统方面,既能抗血小板聚集,又能促进造血补血。川芎性温,味辛,归肝、胆、心包经,具有改善微循环、清除氧自由基、抗血栓等作用^[56]。阿魏酸是当归、川芎中特有的芳香酸,能显著改善血液流变性,抑制血小板聚集,调节血脂,防止血栓形成。绿原酸和洋川芎内酯 I、H 可影响活血效应^[56]。对于脓毒症虚态,中药筛选结果多以具有清热解毒功效的药物为主,包括人参、山药、枸杞子、云芝等。人参性温,味甘、微苦,众多研究表明人参及其活性成分具有显著的免疫调节作用^[57]。人参多糖可以通过抑制内毒素刺激单核巨噬细胞释放的促炎因子导致的淋巴细胞凋亡,还可以促进 CD14⁺ 单核细胞 HLA-DR 表达上升,提示人参多糖可改善脓毒症患者免疫功能^[58]。人参的核心活性成分人参皂苷具有抗炎、免疫调节、抗氧化等药理作用,契合脓毒症“毒、瘀、虚”的核心病机及炎症反应、免疫抑制、凝血障碍等多环节病理特征^[59-60]。灵芝酸是灵芝的主要活性成分之一,具有抗炎、抗肿瘤、抗衰老、免疫调节等药理作用。其中灵芝酸 a 因其优异的抗炎特性而被广泛应用于各类炎症的治疗,灵芝酸 a 可抑制 NF- κ B 信号通路降低炎症因子水平^[61-62]。总之,基于脓毒症态靶相关基因筛选出的潜在靶向中药及其入血活性成分,其治疗机制与态靶病理机制具有较强的一致性,相关临床及基础研究证实了其有效性,但深入的治疗

机制仍有待研究。

4 结论

本研究基于态靶理论通过分析脓毒症相关 scRNA-seq 和 RNA-seq 数据初步揭示了脓毒症患者“毒态、瘀态、虚态”的态靶病理机制，并构建了具有良好生存预测能力的脓毒症态靶预后模型，相关结果有助于提高脓毒症临床精准化诊断的水平和证候客观化研究的深度。同时通过基于态靶基因和逆向网络药理学筛选出态靶机制的潜在干预中药及其代表性入血活性成分。本研究虽然通过多组学数据分析初步揭示了脓毒症“毒、瘀、虚”三态的分子特征，但对于关键信号通路的具体调控机制、分子间的直接互作关系等深层次科学问题，仍需后续通过基因敲除/过表达等实验技术进一步验证。后续研究可在此基础上进一步完善脓毒症态靶病理机制研究的深度与广度，以及天然药物在这一过程中所发挥的调控作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王伊帆, 陈燕, 彭劲民, 等. 中国脓毒症流行病学的研究进展 [J]. 中华重症医学电子杂志, 2023, 9(1): 89-94.
- [2] Giamarellos-Bourboulis E J, Aschenbrenner A C, Bauer M, et al. The pathophysiology of sepsis and precision-medicine-based immunotherapy [J]. *Nat Immunol*, 2024, 25(1): 19-28.
- [3] 徐保转, 王荣辉, 贾菊红, 等. 基于“态靶理论-调控炎症反应机制”探讨中医药防治脓毒症新策略 [J]. 中医临床研究, 2024, 16(17): 124-128.
- [4] 王宜艳, 陈伟. 从“毒”“瘀”“虚”谈脓毒症的中医治疗进展 [J]. 中国中医急症, 2017, 26(9): 1609-1612.
- [5] 李志军. “三证三法”及“菌毒炎并治”治疗脓毒症的研究进展 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2012, 18(6): 553-554.
- [6] 程海波, 张磊, 付勇, 等. 2023 年度中医药重大科学问题、工程技术难题和产业技术问题 [J]. 中医杂志, 2023, 64(14): 1405-1421.
- [7] 张莉莉, 薛崇祥, 周凌, 等. 由靶及态之现代中西医结合医学模式探析 [J]. 中医杂志, 2023, 64(22): 2269-2274.
- [8] 仝小林, 何莉莎, 赵林华. 论“态靶因果”中医临床辨治方略 [J]. 中医杂志, 2015, 56(17): 1441-1444.
- [9] 何浩强, 陈光, 高嘉良, 等. 中医证候的转录组学研究进展与探析 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(1): 1-6.
- [10] Sun F Y, Li H Y, Sun D Q, et al. Single-cell omics: Experimental workflow, data analyses and applications [J]. *Sci China Life Sci*, 2025, 68(1): 5-102.
- [11] 李捷, 唐勇, 刘洁. 单细胞测序技术与中医药前沿研究 [J]. 世界中医药, 2020, 15(11): 1513-1519.
- [12] Baghela A, Pena O M, Lee A H, et al. Predicting sepsis severity at first clinical presentation: The role of endotypes and mechanistic signatures [J]. *EBioMedicine*, 2022, 75: 103776.
- [13] Scicluna B P, Wiewel M A, van Vught L A, et al. Molecular biomarker to assist in diagnosing abdominal sepsis upon ICU admission [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197(8): 1070-1073.
- [14] Qiu X R, Li J, Bonenfant J, et al. Dynamic changes in human single-cell transcriptional signatures during fatal sepsis [J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 110(6): 1253-1268.
- [15] Zhang Y Q, Wang N, Du X, et al. SoFDA: An integrated web platform from syndrome ontology to network-based evaluation of disease-syndrome-formula associations for precision medicine [J]. *Sci Bull*, 2022, 67(11): 1097-1101.
- [16] 黎祖鸣, 封杰妮, 陈雪如, 等. 多组学分析揭示溃疡性结肠炎缓解期脾虚湿困证与活动期湿热阻滞证间的潜在分子机制及靶向中药预测 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 3041-3056.
- [17] 黎祖鸣, 任晓蕾, 陈俊旭, 等. 多水平转录组分析探讨慢性鼻窦炎伴鼻息肉“中医证候-分子机制”关联网络与鼻窦炎口服液干预机制的网络药理学分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2025, 36(1): 114-124.
- [18] Saini J S, Corneo B, Miller J D, et al. Nicotinamide ameliorates disease phenotypes in a human iPSC model of age-related macular degeneration [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(5): 635-647.e7.
- [19] Aibar S, González-Blas C B, Moerman T, et al. SCENIC: Single-cell regulatory network inference and clustering [J]. *Nat Methods*, 2017, 14(11): 1083-1086.
- [20] 田径, 董艳, 刘刚, 等. 二甲双胍减轻脂多糖诱导的脓毒症小鼠脑损伤 [J]. 第三军医大学学报, 2019, 41(15): 1423-1430.
- [21] Kong X R, Liu C, Zhang Z Z, et al. BATMAN-TCM 2.0: An enhanced integrative database for known and predicted interactions between traditional Chinese medicine ingredients and target proteins [J]. *Nucleic Acids Res*, 2024, 52(D1): D1110-D1120.
- [22] Liu X Y, Liu J Y, Fu B Z, et al. DCABM-TCM: A database of constituents absorbed into the blood and metabolites of

- traditional Chinese medicine [J]. *J Chem Inf Model*, 2023, 63(15): 4948-4959.
- [23] 李少萍. 脓毒症中医证型分析及其相关性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [24] 胡彦鸽. 脓毒症中医证型与临床指标及预后的相关性研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2023.
- [25] 邵卢品, 王春霞, 张育才. 固有免疫细胞代谢重编程调控脓毒症免疫稳态的研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(7): 910-912.
- [26] Willmann K, Moita L F. Physiologic disruption and metabolic reprogramming in infection and sepsis [J]. *Cell Metab*, 2024, 36(5): 927-946.
- [27] Lund N C, Kayode Y, McReynolds M R, et al. mTOR regulation of metabolism limits LPS-induced monocyte inflammatory and procoagulant responses [J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 878.
- [28] 董旭鹏, 段倩雯, 马源, 等. 糖酵解在脓毒症免疫代谢中的作用及治疗靶点的研究现状 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(15): 2276-2280.
- [29] 胡琨琳, 庞静, 向淑麟. 代谢重编程在脓毒症中的作用研究进展 [J]. 河南医学高等专科学校学报, 2024, 36(4): 563-566.
- [30] Silverstein R L, Febbraio M. CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior [J]. *Sci Signal*, 2009, 2(72): re3.
- [31] 章晓联. 糖基化与免疫 [J]. 生命科学, 2011, 23(7): 685-694.
- [32] Gaertner F, Massberg S. Blood coagulation in immunothrombosis-At the frontline of intravascular immunity [J]. *Semin Immunol*, 2016, 28(6): 561-569.
- [33] 刘一娜, 马晓春. 脓毒症与凝血功能紊乱 [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(11): 993-997.
- [34] 李琼. 脓毒症弥散性血管内凝血的中医证型分析及相关因素的回顾性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [35] 曹迎, 曲志成, 姚卫海, 等. 脓毒症“凝血障碍-血瘀证-活血化瘀”体系研究进展 [J]. 北京中医药, 2016, 35(11): 1091-1095.
- [36] 江贵军, 吕菁君. 血小板活化及其相关免疫反应在脓毒症中的作用 [J]. 中国感染控制杂志, 2019, 18(3): 271-276.
- [37] Zhu L, Dong H, Li L, et al. The mechanisms of sepsis induced coagulation dysfunction and its treatment [J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 1479-1495.
- [38] Cox D. Sepsis-it is all about the platelets [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1210219.
- [39] 萧凤珠, 吴晖, 邵丹. 从“虚”论治脓毒症 [J]. 中国民族民间医药, 2020, 29(20): 5-6.
- [40] 王今达, 李志军, 李银平. 从“三证三法”辨证论治脓毒症 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(11): 643-644.
- [41] 徐建兴, 杨志旭. 从“虚劳”论治脓毒症并发持续炎症-免疫抑制-高分解代谢综合征 [J]. 中国中医急症, 2024, 33(1): 71-74.
- [42] 张时浩, 潘郭海容, 冯文佳, 等. 基于急性虚证探讨脓毒症免疫紊乱机制 [J]. 长春中医药大学学报, 2022, 38(3): 341-345.
- [43] Yao R Q, Zhao P Y, Li Z X, et al. Single-cell transcriptome profiling of sepsis identifies HLA-DR^{low}S100A^{high} monocytes with immunosuppressive function [J]. *Mil Med Res*, 2023, 10(1): 27.
- [44] Sun X F, Luo W C, Huang S Q, et al. Immune-cell signatures of persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome after sepsis [J]. *Med*, 2025, 6(5): 100569.
- [45] Skakkebaek A, Kjær-Sørensen K, Matchkov V V, et al. Dosage of the pseudoautosomal gene *SLC25A6* is implicated in QTc interval duration [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12089.
- [46] de Azambuja Rodrigues P M, Valente R H, Brunoro G V F, et al. Proteomics reveals disturbances in the immune response and energy metabolism of monocytes from patients with septic shock [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 15149.
- [47] Tan C Y, Ma H, Chen J, et al. Critical role of IL1R2-ENO1 interaction in inhibiting glycolysis-mediated pyroptosis for protection against lethal sepsis [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(39): e02297.
- [48] Lin Q J, Zeng R Y, Yang J F, et al. Prognostic stratification of sepsis through DNA damage response based RiskScore system: Insights from single-cell RNA-sequencing and transcriptomic profiling [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1345321.
- [49] Shu Q, Du Y L, She H, et al. Construction and validation of a mitochondria-associated genes prognostic signature and immune microenvironment characteristic of sepsis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 126: 111275.
- [50] Young-Baird S K, Shin B S, Dever T E. MEHMO syndrome mutation EIF2S3-I259M impairs initiator Met-tRNAiMet binding to eukaryotic translation initiation factor eIF2 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(2): 855-867.
- [51] Cheng L L, Liang J B, Xie F M, et al. Identification and

- validation of a novel glycolysis-related *CeRNA* network for sepsis-induced cardiomyopathy [J]. *Front Med*, 2024, 11: 1343281.
- [52] Braun E, Sauter D. Furin-mediated protein processing in infectious diseases and cancer [J]. *Clin Transl Immunology*, 2019, 8(8): e1073.
- [53] Osman E E A, Rehemtulla A, Neamati N. Why all the fury over furin? [J]. *J Med Chem*, 2022, 65(4): 2747-2784.
- [54] 曹强, 郭亚菲, 叶蕾蕾, 等. 大黄及其活性成分抗炎作用及机制的研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(22): 7285-7294.
- [55] 常静, 尚婷, 王欣桐, 等. 中药通过调控自噬信号通路治疗脓毒症的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2349-2356.
- [56] 李晓雨, 李双凤, 刘晓美, 等. 当归-川芎药对的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(4): 1415-1426.
- [57] 徐慧, 冉靖, 王丹, 等. 人参调节免疫系统疾病研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2025, 43(5): 129-138.
- [58] 瞿星光, 张朝晖, 周刚, 等. 人参多糖对创伤脓毒症患者免疫功能和细胞因子的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(23): 2866-2868.
- [59] 史若愚, 庞树朝, 肖璐, 等. 人参皂苷及其制剂治疗脓毒症的研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(20): 7605-7613.
- [60] 杜莹, 邸晴, 赵相轩. 人参化学成分与药理作用研究进展 [J]. 药学前沿, 2025, 28(9): 1576-1592.
- [61] 金敏, 崔玉龙, 李梦琦, 等. 灵芝酸结构、药理作用及机制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(3): 500-510.
- [62] 罗虹建, 鲁国东, 林占熹, 等. 灵芝主要活性成分药理作用及生物合成研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3366-3379.

[责任编辑 潘明佳]