

基于网络药理学与分子对接技术探索 麦味地黄丸对特发性肺纤维化和 2型糖尿病“异病同治”的作用机制

刘蔓^{1,2}, 李雨婷³, 蒋静^{1,2}, 李丽群^{1,2}, 李歆怡^{1,2}, 王冬梅⁴, 王海^{1,2*}, 木本荣^{1,2*}

¹成都中医药大学医学技术学院, 四川 成都

²川渝共建感染性疾病中西医结合诊治重庆市重点实验室, 重庆

³成都中医药大学药学院, 四川 成都

⁴成都中医药大学基础医学院, 四川 成都

收稿日期: 2023年3月21日; 录用日期: 2023年4月19日; 发布日期: 2023年4月29日

摘要

目的: 基于“异病同治”的中医经典理论, 运用网络药理学及分子对接技术探讨麦味地黄丸对特发性肺纤维化和2型糖尿病的关键分子机制。方法: 利用中药复方以及中药材的各大数据库和分析平台数据库(TCMSP, TCM, BATMAN-TCM)筛选麦味地黄丸的活性成分, 在OMIM、TTD、DrugBank、GeneCards、pahmGKB数据库平台预测IPF及T2DM疾病作用靶点。对麦味地黄丸活性成分靶点与麦味地黄丸、IPF及T2DM疾病交集靶点进行蛋白质互作(PPI)网络构建及核心靶点筛选, 将筛选出的核心靶点进行GO和KEGG通路富集分析。筛选核心成分和核心靶点, 利用Pubchem数据库、AutoDock软件、Discovery Studio软件等进行分子对接验证。结果: 从麦味地黄丸中共筛选得到活性成分184个, 活性成分潜在作用靶点1446个, 取IPF疾病靶点前1555个, T2DM疾病靶点前1559个, 取交集, 获得麦味地黄丸-IPF-T2DM交集靶点238个。GO富集分析结果显示主要与骨髓细胞分化的正向调节、造血调节、破骨细胞分化、骨髓细胞分化的调节、正向调节生长、RNA聚合酶II转录、白细胞分化、对肽激素的反应、对肽的反应、细胞对生长因子刺激的反应等相关; KEGG通路富集分析得到131条通路, 与IPF及T2DM相关且排序较靠前的通路有PD-L1表达和PD-1检查点通路在癌症中的应用、Th1和Th2细胞分化、Th17细胞分化等。分子对接结果表明, 麦味地黄丸中的核心成分Aristolone (马兜铃酮)、Nootkatone (诺卡酮)、Quercetin (槲皮素)与核心靶点STAT1、FOS、IL2、CREB1、EGFR和MAPK14具有良好的结合潜力。结论: 麦味地黄丸治疗IPF和T2DM具有多靶点效应, 涉及多条生物过程和信号通路, 可能通过调控PD-L1表达和PD-1检查点通路在癌症中的应用、Th1和Th2细胞分化、Th17细胞分化等通过炎症反应以及免疫调节发挥“异病同治”作用。

关键词

麦味地黄丸, 异病同治, 特发性肺纤维化, 2型糖尿病, 网络药理学, 分子对接

*通讯作者。

文章引用: 刘蔓, 李雨婷, 蒋静, 李丽群, 李歆怡, 王冬梅, 王海, 木本荣. 基于网络药理学与分子对接技术探索麦味地黄丸对特发性肺纤维化和2型糖尿病“异病同治”的作用机制[J]. 中医学, 2023, 12(4): 887-904.

DOI: 10.12677/tcm.2023.124133

Mechanism of Maiwei Dihuang Pills in Treating Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Type 2 Diabetes Mellitus with “Treating Different Diseases with Same Method” Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Technology

Man Liu^{1,2}, Yuting Li³, Jing Jiang^{1,2}, Liqun Li^{1,2}, Xinyi Li^{1,2}, Dongmei Wang⁴, Hai Wang^{1,2*}, Benrong Mu^{1,2*}

¹College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

²Chongqing Key Laboratory of Sichuan-Chongqing Co-construction for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chongqing

³School of Public Health, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

⁴School of Basic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan

Received: Mar. 21st, 2023; accepted: Apr. 19th, 2023; published: Apr. 29th, 2023

Abstract

Objective: Based on the classical theory of traditional Chinese medicine of “simultaneous treatment of different diseases”, the key molecular mechanism of Maiwei Dihuang Pill on idiopathic pulmonary fibrosis and type 2 diabetes mellitus was investigated by using network pharmacology and molecular docking technology. **Methods:** The active ingredients of Wheat Huang Pill were screened by using the Chinese medicine compound and the major databases and analysis platform databases of Chinese medicinal materials (TCMSP, TCM, BATMAN-TCM), and the target of IPF and T2DM diseases was predicted on the OMIM, TTD, DrugBank, GeneCards, and pahmGKB database platforms. The protein interaction (PPI) network construction and core target screening of the active ingredient target of Maiwei Dihuang Pills and the disease targets of Maiwei Dihuang Pills, IPF and T2DM were carried out, and perform GO and KEGG pathway enrichment analysis. Core components and core targets were screened, and molecular docking verification was carried out by using Pubchem database, AutoDock software, Discovery Studio software, *etc.* **Results:** A total of 184 active ingredients were screened from Maiwei Dihuang Pills, 1446 potential targets of active ingredients, 1555 first IPF disease targets and 1559 T2DM disease targets were taken and intersected, and 238 intersection targets of Maiwei Dihuang Pills-IPF-T2DM were obtained. The results of GO enrichment analysis showed that it was mainly related to the positive regulation of bone marrow cell differentiation, hematopoietic regulation, osteoclast differentiation, regulation of bone marrow cell differentiation, forward regulation of growth, RNA polymerase II transcription, leukocyte differentiation, response to peptide hormone, response to peptide, and cell response to growth factor stimulation. KEGG pathway enrichment analysis yielded 131 pathways, including PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer, differentiation of Th1 and Th2 cells, and differentiation of Th17 cells. The results of molecular docking showed that the core components Aristolone, Nootkatone and Quercetin in Maiwei Dihuang Pills had good binding potential with the core targets STAT1, FOS, IL2, CREB1, EGFR and MAPK14. **Conclusion:** The treatment of IPF and T2DM has multi-target effects, involving multiple biological processes and signaling pathways,

which may play a role in “treating different diseases” through inflammatory response and immune regulation by regulating PD-L1 expression and PD-1 checkpoint pathway in cancer, Th1 and Th2 cell differentiation, Th17 cell differentiation, etc.

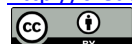
Keywords

Maiwei Dihuang Pills, Same Treatment for Different Diseases, Idiopathic Pulmonary Fibrosis, Type 2 Diabetes Mellitus, Network Pharmacology, Molecular Docking

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种发展缓慢的、进行性的、不可逆的肺纤维化,本质上为间质性肺炎的一种疾病。IPF 的临床表现一般为咳嗽咳痰、杵状指、发绀、进行性呼吸艰难等,但病因具体机制尚且不是十分明朗[1]。在中医中,IPF 归属于“肺痿”或者是“肺痹”等范围,肺痿的说明是基于《金匱要略》,其中专篇论述提出肺痿乃肺中虚冷,中焦不得温养而发痿,肺胃气阴两虚、虚火灼肺、肺气痿弱不振而发病,抑或肺胃气阴两虚、虚火灼肺、肺气痿弱不振而发病;肺痹主要病症特点为肺气闭阻,一开始来源于《黄帝内经》中“五脏痹”的理论,如“淫气喘息,痹聚在肺”“肺痹者,烦满喘而呕”等[2] [3]。

近年来,IPF 的患病人群越发呈现一种年轻化的趋势,以及人群发病率呈现一种逐年递增的现状,而且该疾病的预后极差[4]。在全球范围中,每 10 万人中患病人群超过 60 人,患者一旦确诊不超过一半的人可以达到 5 年生存率[5]。目前常用的疗法包括糖皮质激素、抗纤维化制剂、细胞毒药物和免疫抑制剂的单用或联合使用,然而这些治疗方法的药物治疗效果并不佳,几乎都有不同程度的副作用,长期使用将导致许多并发症[2]。目前尚未发现有治疗特效药,但有研究表明,在治疗 IPF 上中药有着不错疗效[6]。

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种发展缓慢的、高血糖的代谢方面的疾病,病因是因为胰岛素分泌缺乏或对胰岛素敏感故障。DM 一般分为 1 型糖尿病(diabetes mellitus type 1, T1DM)和 2 型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM)两种类型。DM 患者总数的 95% 以上为 T2DM 患者, T2DM 是 MD 中最常见的一种类型;在临床上,患者年龄逐渐趋于年轻化,且以肾阴亏虚型 T2DM 最为常见[7]。T2DM 是一类以高血糖为特点、发展缓慢的、无感染性的代谢病变,在临床上主要表现为炎症作用的增高和新陈代谢障碍等[8]。《糖尿病中医防治指南》中表明,DM 病位在五脏,主要部位是脾(胃)、肝、肾,还与心肺相关联[9]。

在危害人类健康上,DM 被称为“甜蜜杀手”;DM 在预防以及治疗上十分困难,尤其是几乎不可能治愈,是在心血管疾病及肿瘤之后的第三大基础疾病[10]。2021 年,在国际糖尿病联盟(International Diabetes Federation, IDF)统计中表明,中国是全球糖尿病患者基数最大的一个国家,超过 1 亿,全球范围内的成年患者基数超过 5.3 亿,预计 20 年后,全球 DM 病患者基数预计将超过 7.8 亿[11]。更难以接受的是,患者确诊后,没有可以治愈的药物,一般需要终生用药;目前治疗 T2DM 主要有注射胰岛素和口服降糖药物等方式,口服降糖药物包括几大类: α -糖苷酶抑制剂(阿卡波糖等)、格列奈(瑞格列奈等)、磺脲(格列吡嗪等)、双胍(二甲双胍等)、噻唑烷二酮(罗格列酮等)等。虽然化学药治疗 T2DM 见效快,但因为药物作用靶点单一,长期服用易引发多种不良反应,如:酮酸中毒、肝肾慢性损伤、出现继发性失效及胃肠道消化不良等,且注射胰岛素的依从性差,所以寻找更加合适的降糖药物,十分迫切。几千年的

传承发展中, 中医药治疗疾病从整体水平出发, 综合调理人体气血阴阳平衡, 可有效防治疾病, 在治疗 IPF 及 T2DM 方面具有独到的见解[12] [13]。

麦味地黄丸出自《医部全录》, 由八味中药组成, 包括: 茯苓、淮山药、麦冬、牡丹皮、山茱萸、熟地黄、五味子、泽泻, 具有滋肺补肾的作用。方剂中茯苓、泽泻补肺宁心, 利水清热; 淮山药健脾祛湿, 补肺肾气; 麦冬润肺养阴, 既收虚损之肺气, 又润耗散之肺阴; 牡丹皮活血通络; 山茱萸补益肝肾, 固本定喘; 熟地黄滋阴益肾; 五味子敛降肺气, 八味药组合在一起达到补气益肾、宣肺止咳、止咳化痰之功效用[14]。

特发性肺纤维化的主要病位在肺, 同时涉及心、脾、肾等脏[3]; 在临床上, 2 型糖尿病以肾阴亏虚型 T2DM 最为常见[7]; 在《素问》中表明“肺受气于肾” [15]; 且麦味地黄丸的功效是滋补肺肾, 主要治疗肺肾阴虚证[14]。但中药成分复杂, 关于麦味地黄丸的物质基础及其治疗 IPF 及 T2DM 的作用机制依旧不明确。所以本研究通过网络药理学关于“整体观”的研究方法, 构建“疾病-通路-靶点-药物”的多级网络, 从多角度分析并阐述麦味地黄丸组方中药的主要活性成分 IPF、T2DM 的关联性, 以期进一步拓展麦味地黄丸异病同治的科学内涵, 为临床推广应用和深入研究提供理论依据, 现将研究结果报道如下。

2. 材料与方法

2.1. 麦味地黄丸活性成分及靶点筛选

依次将麦味地黄丸复方中的八味中药: 茯苓、淮山药、麦冬、牡丹皮、山茱萸、熟地黄、五味子、泽泻, 输入 TCMSp 数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)和 TCM 数据库(<https://bidd.group/TCMID/search.php>), 筛选有效成分规范为: 口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 和类药性指数(DL) ≥ 0.18 、输入 BATMAN-TCM 数据库(<http://bionet.ncpsb.org.cn/batman-tcm/>), 根据 Score cutoff (分数截止值) > 20 和 P -value < 0.05 作为尺度进行选择有效成分和基因。三个数据库数据去重, 筛选确定复方活性成分和靶点预测, 最后运用 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/>)获得有效成分中蛋白对应标准基因名。

2.2. IPF 和 T2DM 靶点收集和交集靶点获得

以“idiopathic pulmonary fibrosis”和“diabetes mellitus type 2”为关键词, 分别输入 OMIM 数据库(<https://omim.org/>)、Therapeutic Target Database (TTD)数据库(<https://db.idrblab.net/ttd/>)、DrugBank 数据库(<https://go.drugbank.com/>)、GeneCard 数据库(<https://www.genecards.org/>)、pahmGKB 数据库(<https://www.pharmgkb.org/>)检索 IPF 及 T2DM 的靶点, 汇总删除重复靶点后, 使用 Venny 2.1.0 在线分析工具(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)获得麦味地黄丸与 IPF、T2DM 的交集靶点。

2.3. “麦味地黄丸-成分-靶点”网络构建

将麦味地黄丸与 IPF、T2DM 的交集靶点以及有效活性成分处理并输入 Cytoscape 3.9.1 软件, 通过 Analyze Network 这一功能进行拓扑分析, 分析度值、中介中心性、亲密中心性等, 并以节点度值参数的大小为关键参考构建“麦味地黄丸-有效成分-靶点”网络。

2.4. 蛋白质互作(PPI)网络构建及核心靶点分析

将麦味地黄丸与 IPF 和麦味地黄丸与 T2DM 的交集靶点各自导入 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>), 通过设置蛋白相互作用可信度(high confidence) ≥ 0.900 获得 PPI 网络图。在 Cytoscape 3.9.1 软件中插入获得的 PPI 网络, 使用 Analyze Network 这一功能进行拓扑分析, 利用中位值筛选靶点, 对比筛选出靶点分析麦味地黄丸治疗 IPF 和 T2DM 的关联性。

将麦味地黄丸与 IPF、T2DM 的交集靶点导入 STRING 数据库, 通过设置蛋白相互作用可信度 ≥ 0.900

筛选获得 PPI 网络图。在 Cytoscape 3.9.1 软件中插入获得的 PPI 网络，通过 Analyze Network 这一功能开始拓扑分析，利用中位值筛选靶点，作为潜在核心靶点，为后续研究打下基础。

2.5. GO 功能和 KEGG 通路富集分析

借助 Metascape 数据库(<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)对前面所得出的核心基因，以 $P < 0.05$ 为标准进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 分析主要用于描述基因产物的功能，其中包括生物学过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC)和分子功能(molecular function, MF)。依照富集因子值解析核心基因中这些核心通路富集程度，探索麦味地黄丸治疗 IPF、T2DM 潜在存在的生物功能及信号通路机制。

2.6. 分子对接

为探究前期网络药理学，选取 PPI 网络中度值筛选出的潜在作用靶点作为受体大蛋白，从 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)找出对应靶点核心蛋白结构域并下载 pdb 格式，利用 Chem 3D 软件去除小分子。选取前 3 的有效活性成分使用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载其 2D 结构，使用 Chem 3D 软件将 2D 结构转换为相应的、最稳定的 3D 结构，并输出格式为 mol*2。利用 AutoDock Tools 1.5.7 软件对蛋白质进行去水、加氢等将药物活性成分及转换核心蛋白基因文件格式，并运行 Discovery Studio 4.5 Client 寻找寻找活性口袋对接位点，最后运行“命令提示符(Windows 快捷键 cmd)”进行分子结合能运算以及分子对接结果的获得，将获得的分子对接结果导入 PyMOL 软件进行分子对接构象的展示。如果运算出的结合能为负值时，则表明配体与受体可在自然状态下可自行结合。将分子对接结果的配体 - 受体对接形成的复合物进行 3D 展示，以此来达到评估生物信息分析预测的准确性或可靠性。

3. 结果

3.1. 麦味地黄丸活性成分及靶点确定

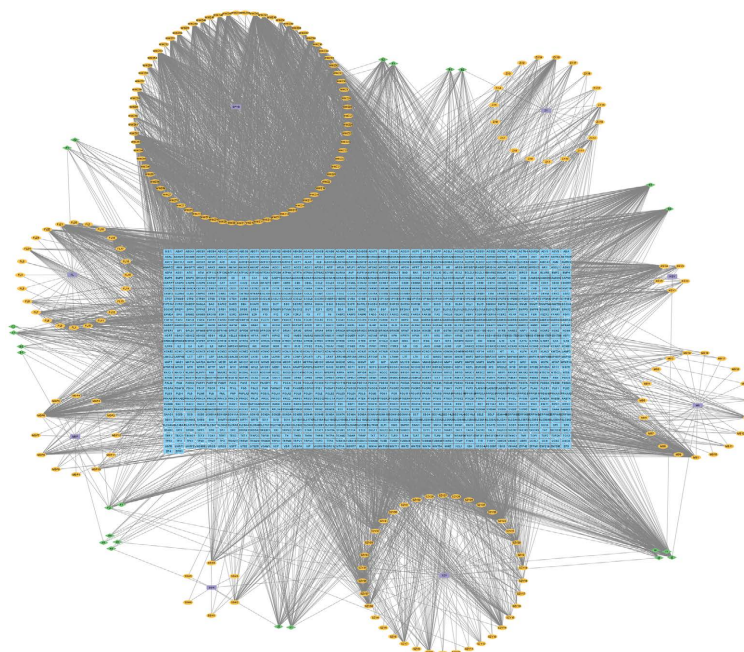


Figure 1. Maiwei Dihuang Pills-active component-target interaction network
图 1. 麦味地黄丸 - 有效活性成分 - 靶点互作网络

通过 TCMSp 数据库、TCM 数据库、BATMAN-TCM 数据库以及文献检索,经筛选后获得麦味地黄丸有效成分 150 种,其中共有成分 9 种。麦冬有效成分 19 种、五味子有效成分 75 种、熟地黄有效成分 6 种、淮山药有效成分 5 种、山茱萸有效成分 38 种、牡丹皮有效成分 12 种、泽泻有效成分 19 种、茯苓有效成分 24 种;茯苓、山茱萸共有成分是 20-Hexadecanoylgingerol,山茱萸、泽泻共有成分是 2-Furancarboxylic Acid,淮山药、五味子共有成分是 Cholesterol,山茱萸、五味子共有成分是 Elemicin,牡丹皮、山茱萸共有成分是 Gallicacid,牡丹皮、五味子共有成分是 Quercetin,牡丹皮、山茱萸、熟地黄、泽泻共有成分是 Sitosterol,淮山药、麦冬、山茱萸、熟地黄共有成分是 Stigmasterol,麦冬、熟地黄共有成分是 Uridine。采用 Cytoscape 3.9.1 软件构建麦味地黄丸-有效活性成分-靶点互作网络,共获得 1676 个节点(其中靶点 1315 个,活性成分 150 个),8269 条边,结果见图 1。

3.2. 麦味地黄丸与 IPF、T2DM 的交集靶点获取

通过对 GeneCards 数据库、OMIM 数据库、DrugBank 数据库、Therapeutic Target Database (TTD)数据库、PharmGKB 数据库检索并删除重复靶点后,取用 IPF 1555 个靶点、T2DM 1559 个靶点。使用 Venny 2.1.0 在线分析工具,使之获得麦味地黄丸治疗 IPF 及 T2DM 的潜在作用靶点 238 个,麦味地黄丸治疗 IPF 的潜在作用靶点 368 个,麦味地黄丸治疗 T2DM 潜在作用靶点 144 个,IPF 与 T2DM 交集靶点 543 个,具体结果见图 2。

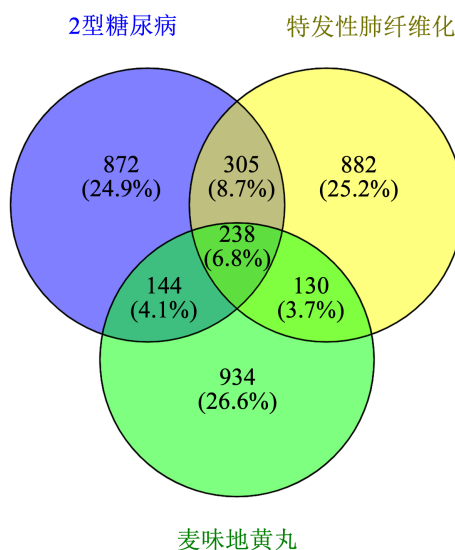


Figure 2. Maiwei Dihuang Pills-IPF-T2DM venny
图 2. 麦味地黄丸-IPF-T2DM 韦恩图

3.3. 中药成分-靶点-通路网络

利用 Cytoscape 3.9.1 软件构建麦味地黄丸-活性成分-靶点网络,详情见图 3。该网络包含 394 个节点和 1941 条边,节点度值越大,表明其在网络中越重要。根据节点度值等网络拓扑特征进行核心活性成分的筛选。其中共有 153 个关联靶点活性成分,关联靶点数前 7 位活性成分有: Epiguaipyridine、Alpha-Corocalene、Aristolone、Quercetin、(E)-9-Isopropyl-6-Methyl-5,9-Decadiene-2-One、Nootkatone、Nonylphenol。前 4 位活性成分有: Aristolone (马兜铃酮)、Quercetin (槲皮素)、Nootkatone (诺卡酮)、(E)-9-Isopropyl-6-Methyl-5,9-Decadiene-2-One 其中前 4 位活性成分可能是麦味地黄丸的核心药效成分,拓扑参数见表 1。

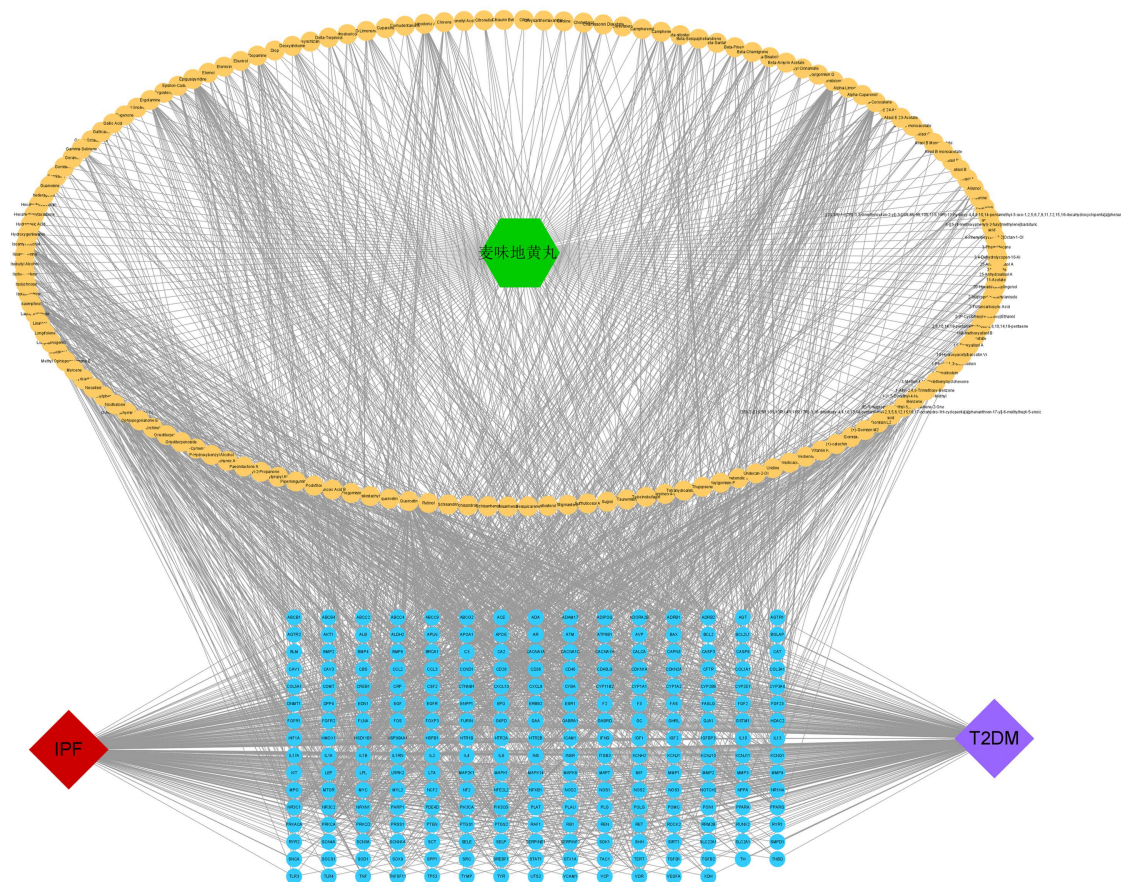
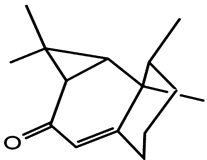
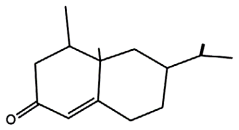


Figure 3. Maiwei Dihuang Pills-active ingredients-target network

图 3. 麦味地黄丸 - 活性成分 - 靶点网络

Table 1. Topology analysis table of potential core target genes in the treatment of IPF and T2DM

表 1. 味地黄丸治疗 IPF、T2DM 的潜在核心靶基因拓扑分析表

ID	成分名称	来源	度值	介度	紧密度	Structure
MOL003546	Aristolone (马兜铃酮)	山茱萸	55	0.0154	0.428	
MOL004067	Nootkatone (圆柚酮)	五味子	55	0.0154	0.428	
MOL000098	Quercetin (槲皮素)	牡丹皮、 五味子	85	0.0434	0.458	

Continued

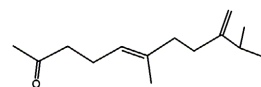
(E)-9-Isopropyl-6-Methyl-5,9-Decadiene-2-One
 (9-异丙基-6-甲基-5,9-癸二烯-2-酮)

五味子

53

0.0133

0.426



3.4. 药物 - 活性成分 - 靶点网络与分析

将麦味地黄丸治疗 IPF、麦味地黄丸治疗 T2DM 潜在作用靶点导入 STRING 在线分析网站, 设定最低互作评分中的蛋白相互作用可信度(high confidence) ≥ 0.900 , 并导出 PPI 结果数据。并进一步通过 Cytoscape 3.9.1 软件分别得到治疗麦味地黄丸治疗 IPF、T2DM 潜在靶基因的 PPI 网络模型, 使用 Degree 算法, 得出大于 Degree 中位值两倍的潜在核心靶基因, 通过分析网络并限定 Degree、BC、CC、NC 值均大于中位值, 得到 PPI 核心网络, 得到麦味地黄丸分别治疗 IPF、T2DM 共同潜在核心靶点有 ESR1、MYC、STAT1、FOS、IL2、CREB1、EGFR、MAPK14、NR3C1, 详细结果见图 4。

将麦味地黄丸治疗 IPF、T2DM 的潜在作用靶点导入 STRING 在线分析网站, 设置隐藏未连接的靶点, 设定最低互作评分中的蛋白相互作用可信度(high confidence) ≥ 0.900 , 并导出 PPI 结果数据, 获得包含 238 个节点和 1034 条边的 PPI 网络, 其中孤立靶点 25 个, 结果见图 5。将该网络以 TSV 格式导入 Cytoscape 3.9.1 进行拓扑分析, 获得治疗麦味地黄丸治疗 IPF 及 T2DM 潜在靶基因的一个具有 213 个节点、1034 条边的潜在靶基因的 PPI 网络模型, 见图 6。使用 Degree 算法, 得出大于 Degree 中位值两倍的潜在核心靶基因, 通过分析网络并限定 Degree、BC、CC、NC 值均大于中位值, 得到 PPI 核心网络, 麦味地黄丸治疗 IPF、T2DM 的潜在核心靶基因有 CREB1、EGFR、FOS、IL2、MAPK14、STAT1, 详细结果见图 7、表 2。

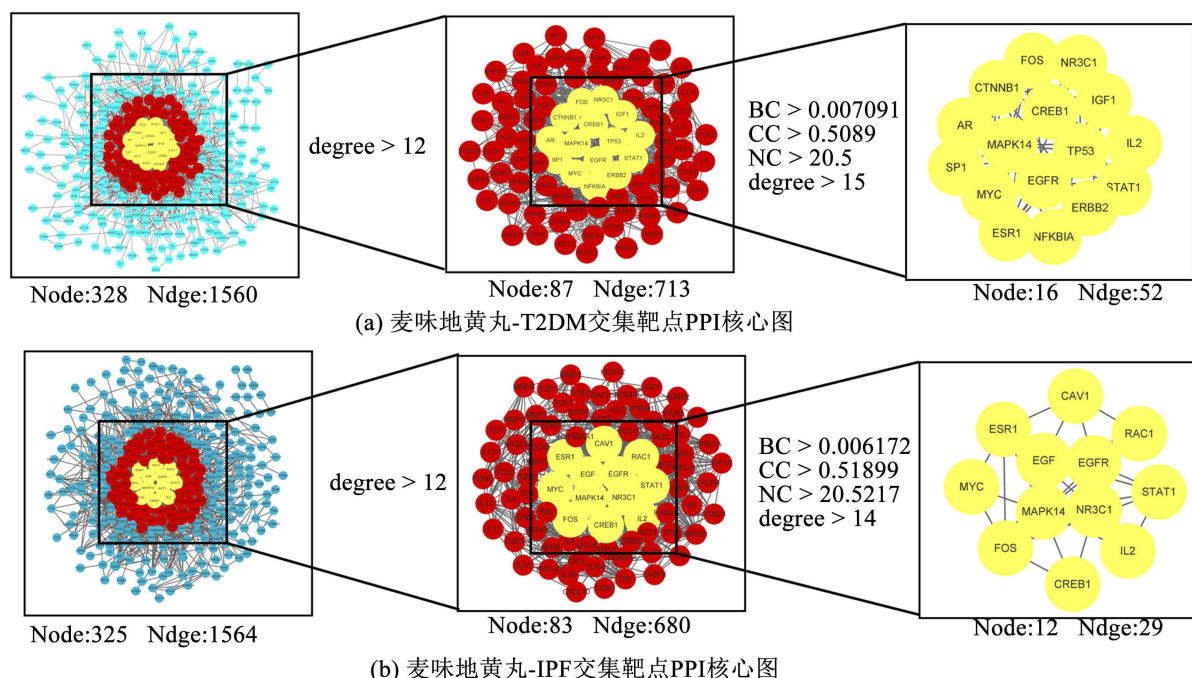


Figure 4. PPI core network of Maiwei Dihuang Pills in treating IPF and T2DM

图 4. 麦味地黄丸分别治疗 IPF、T2DM、PPI 核心网络

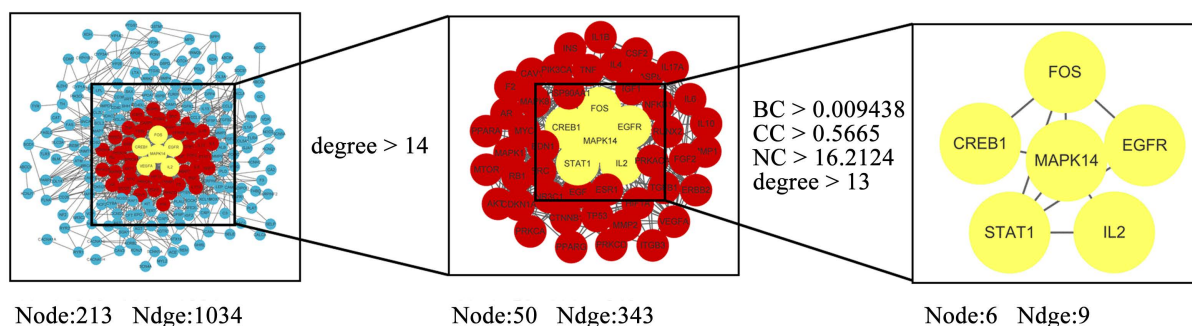


Figure 7. PPI core network of Maiwei Dihuang Pills in treating IPF and T2DM

图 7. 麦味地黄丸治疗 IPF 及 T2DM PPI 核心网络

Table 2. Characteristic parameters of main active components network nodes of Maiwei Dihuang Pills

表 2. 麦味地黄丸核心活性成分网络节点特征参数

Tagrets	Uniprot ID	蛋白注释	度值
CREB1	P16220	CREB-regulated transcription coactivator 2 CyclicAMP-responsiveelement-binding protein 1	23
EGFR	P00533	Epidermal growth factor receptor	25
FOS	P01100	C-JUN PROTO-ONCOGENE PROTEIN P55-C-FOS PROTO-ONCOGENE PROTEIN	27
IL2	P60568	INTERLEUKIN-2	21
MAPK14	Q16539	Mitogen-activated protein kinase 14	31
STAT1	P42224	Signaltransducer and activator of transcription 1-alpha/beta, Inhibitor of STAT1-dependent transcription TgIST	25

3.5. GO 功能和 KEGG 通路富集分析

通过 Metascape 数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析，富集结果按照 P 值从小到大排序，选取 GO 功能前 10 个通路和 KEGG 前 20 个通路条目进行可视化，结果见图 8、图 9。结果提示共同靶点 GO 富集分析涉及 1305 条 ($P < 0.05$, count ≥ 1)，其中 KEGG 131 条，主要影响生物过程(BP)的有 651 条，主要包括骨髓细胞分化的正向调节、造血调节、骨髓细胞分化的调节、正向调节生长、破骨细胞分化、RNA 聚合酶 II 转录、对肽激素的反应、白细胞分化、对肽的反应、细胞对生长因子刺激的反应等。细胞的组成(CC)有 27 条，主要包括 RNA 聚合酶 II 转录调节因子复合物、转录调节复合体、多泡体，内囊泡腔、SHC-EGFR 复合物、SGF3 复合体、ATF4-CREB1 转录因子复合物、转录因子 AP-1 复合物、多泡体，内部囊泡、囊泡腔、细胞质的核周区域等。分子功能(MF)有 78 条，主要包括 RNA 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、转录因子结合、磷酸酶结合、RNA 聚合酶 II 核心启动子序列特异性 DNA 结合、核心启动子序列特异性 DNA 结合、染色质结合、酶活化剂活性、转录共调节结合等。

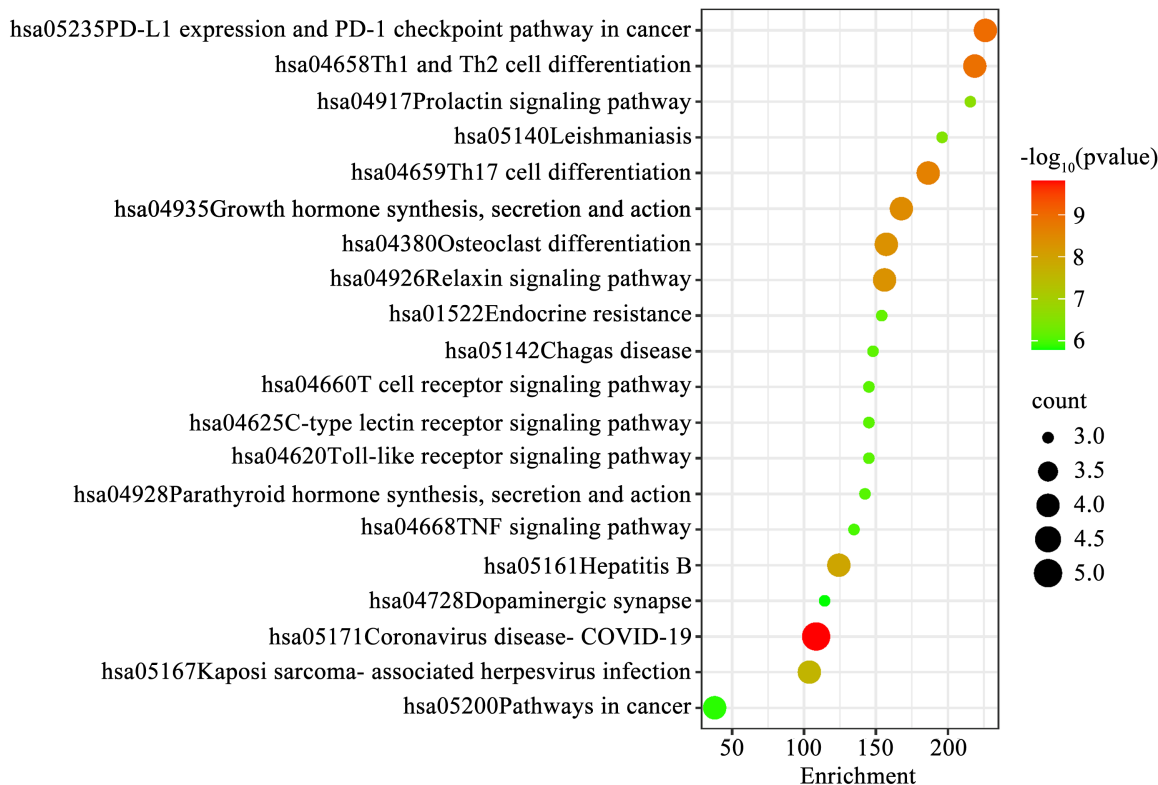


Figure 8. Bubble plot of KEGG enrichment analysis of the core target of IPF-T2DM with Maiwei Dihuang Pills

图 8. 麦味地黄丸-IPF-T2DM 核心靶点 KEGG 富集分析气泡图

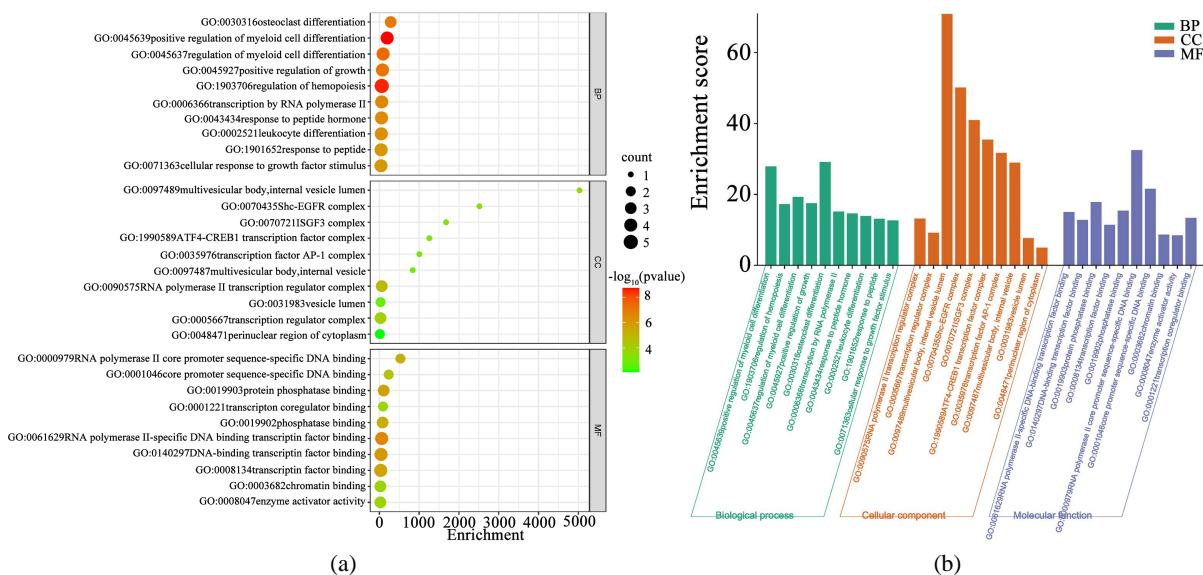


Figure 9. GO enrichment analysis of the core target of IPF-T2DM with Maiwei Dihuang Pills

图 9. 麦味地黄丸-IPF-T2DM 核心靶点 GO 富集分析图

3.6. 分子对接验证

由前面结果分析得出, 麦味地黄丸治疗 IPF、T2DM 取前 3 的主要有效活性成分 Aristolone (马兜铃酮)、Quercetin (槲皮素)、Nootkatone (诺卡酮), 潜在核心靶基因有 CREB1、EGFR、FOS、IL2、MAPK14、

STAT1。利用 AutoDock Tools 1.5.7 软件设置受体配体，运行 Discovery Studio 4.5 Client 寻找寻找活性口袋，最后运行“命令提示符(Windows 快捷键 cmd)”进行分子结合能计算以及分子对接结果展示，见表 3。在分子对接中，配体分子与受体分子的结合能越低，则相互结合的构象越稳定，在自然环境中，受体与配体之间结合的可能性越高[16]。本结果中表明所有构象结合能均小于-5 kcal/mol，将对接结果利用 PyMol 软件进行可视化，详见图 10、表 4。

Table 3. Binding energy of core compounds and core target proteins of Maiwei Dihuang Pills
表 3. 麦味地黄丸核心化合物和核心靶蛋白的结合能

Compounds	Tagrets	PDB ID	Affinity (kcal/mol)
Aristolone (马兜铃酮)	CREB1	P16220	-5.8
	EGFR	P00533	-6.4
	FOS	P01100	-7.5
	IL2	P60568	-5.4
	MAPK14	Q16539	-6.7
	STAT1	P42224	-5.3
Nootkatone (诺卡酮)	CREB1	P16220	-6.1
	EGFR	P00533	-6.4
	FOS	P01100	-8.4
	IL2	P60568	-7.3
	MAPK14	Q16539	-6.5
	STAT1	P42224	-6.0
Quercetin (槲皮素)	CREB1	P16220	-6.8
	EGFR	P00533	-7.9
	FOS	P01100	-10.4
	IL2	P60568	-7.9
	MAPK14	Q16539	-7.7
	STAT1	P42224	-7.7

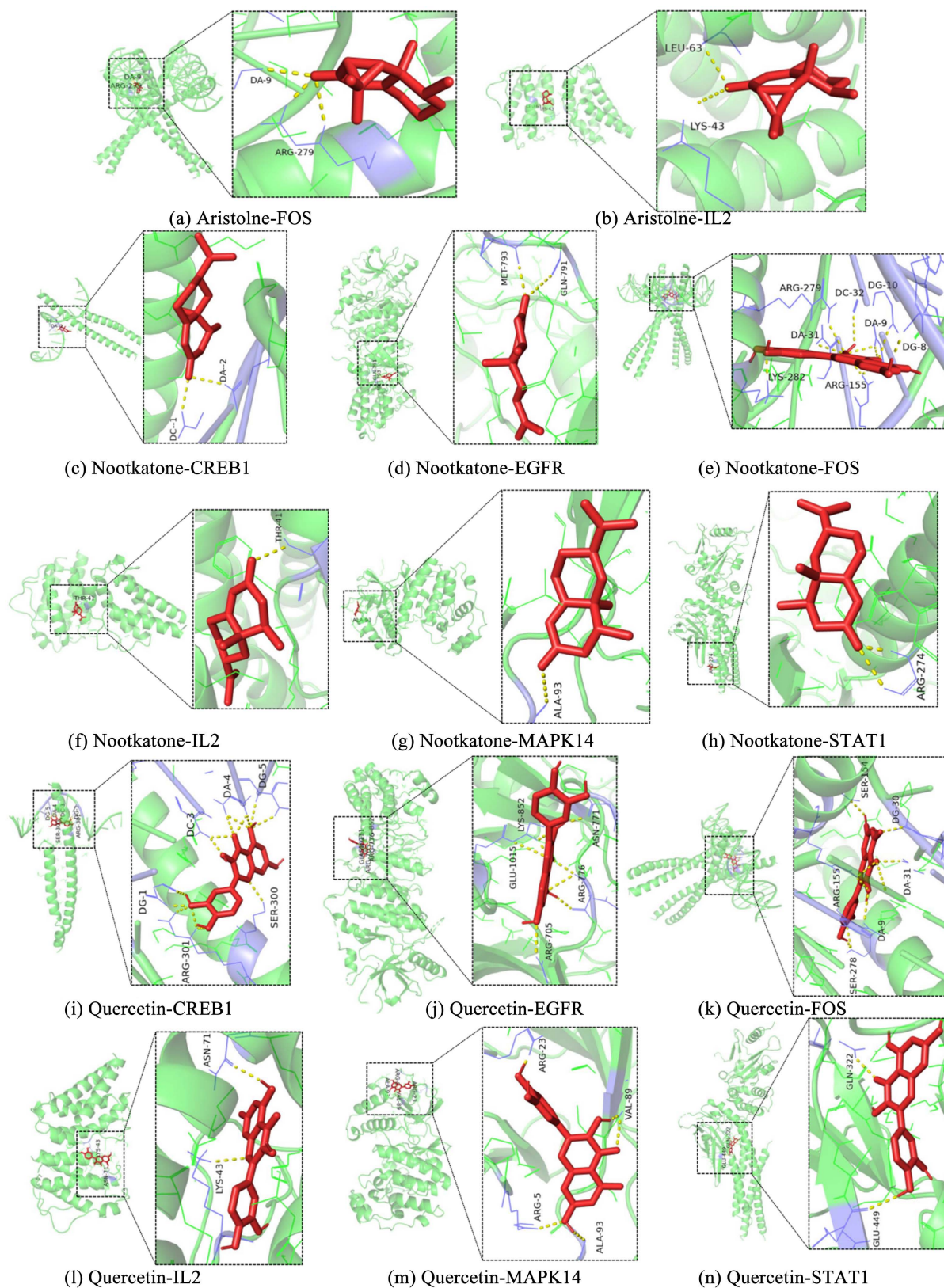


Figure 10. Molecular docking results
图 10. 分子对接结果

Table 4. Amino acid residues at ligand receptor binding sites
表 4. 配体受体结合位点氨基酸残基

配体受体	结合位点氨基酸残基
Aristolone-FOS	ARG-279 DA-9
Aristolone-IL2	LEU-63 LYS-43
Nootkatone-CREB1	DA-2 DC-1
Nootkatone-EGFR	GLN-791 MET-793
Nootkatone-FOS	ARG-155 ARG-279 DA-9 DA-31 DC-32 DG-8 DG-10 LYS-282
Nootkatone-IL2	THR-41
Nootkatone-MAPK14	ALA-93
Nootkatone-STAT1	ARG-274
Quercetin-CREB1	ARG-301 DA-4 DC-3 DG-1 DG-5 SER-300
Quercetin-EGFR	ARG-705 ARG-776 ASN-771 GLU-1015 LYS-852
Quercetin-FOS	ARG-155 DA-9 DA-31 DG-30 SER-154 SER-278
Quercetin-IL2	ASN-71 LYS-43
Quercetin-MAPK14	ALA-93 ARG-5 ARG-23 VAL-89
Quercetin-STAT1	GLN-322 GLU-449

4. 讨论

本研究通过网络药理学和分子对接方法，共筛选出麦味地黄丸 150 种活性成分，1315 个作用靶点，238 个麦味地黄丸与 IPF 及 T2DM 疾病的交集靶点，通过药物 - 有效活性成分 - 靶点网络推测出麦味地黄丸的核心活性成分为 Aristolone (马兜铃酮)、Quercetin (槲皮素)、Nootkatone (诺卡酮)等。马兜铃酮作为挥发油的主要成分之一，在多种植物挥发油中存在，这些植物挥发油常常在抗氧化、抑菌方面等具有一定的作用功效[17]。众多研究表明，槲皮素具有抗癌、抗氧化、抗菌、抗炎等重要的药理学活性，多种药理活性协同作用使其成为探索急性和慢性人类疾病治疗方式的关注重点[18]。槲皮素通过拮抗刺激信号通路来改善硫代乙酰胺诱导的肝纤维化和氧化应激[19]。槲皮素可以通过抑制 TNF、IL6 和 MAPK 来抵抗炎症和氧化应激，从而减轻肾损伤[20]。诺卡酮能够通过抑制一氧化氮的产生，增强抗氧化酶的活性，在体外上调抗氧化和抗凋亡蛋白的表达，发挥与 Ca²⁺信号通路相关的抗凋亡作用[21]。

PPI 网络分析显示，麦味地黄丸干预 IPF 和 T2DM 疾病的过程主要涉及 CREB1、EGFR、FOS、IL2、

MAPK14、STAT1 等核心靶点。CREB1 又被称为 AMP 响应性元件结合蛋白 1；磷酸化依赖性转录因子，在与 DNA cAMP 反应元件(CRE)结合时刺激转录，CRE 是许多病毒和细胞启动子中存在的序列。Tan [22]等在细胞实验中证明 TRIM28 通过上调 miR-125b-5p，以此来抑制 CREB1 诱导非小细胞肺癌顺铂耐药。FET-CREB 融合的颅内间充质肿瘤是 FET 家族基因与 CREB 家族转录因子(ATF1、CREB1 或 CREM)融合，并且被称为颅内血管瘤样纤维组织细胞瘤或颅内粘液样间充质瘤[23]。EGFR 又被称为表皮生长因子受体；受体酪氨酸激酶结合 EGF 家族的配体并激活几个信号级联，将细胞外线索转化为适当的细胞反应。Kumar [24]等研究表明，AKT1、VEGFA、EGFR 和 GSK3B 基因是降低小细胞肺癌发病率的有希望和可行的治疗靶点。洪望龙[25]等研究表明，EGFR 突变是 NSCLC 患者中最常见的基因突变类型，在亚洲病患中发生率约为 48%；在 EGFR 突变晚期非小细胞肺癌患者中，EGFR 酪氨酸激酶抑制剂已成为的标准治疗方案。Harris [26]的研究证明，EGFR 出现非正常的、持续的信号转导，将诱导肾小管和肾小球损伤，导致肾脏纤维化。FOS 又被称为原癌基因 c-FOS，在异二聚体中，FOS 和 JUN/AP-1 碱基区域似乎都与对称的 DNA 半位点相互作用。康宁[27]等研究表明，在人肺肺成纤维细胞 c-Fos 及其磷酸化蛋白中，炭黑诱导其表达水平增高，而且在这个诱导的过程中，c-Jun 氨基末端激酶以及细胞外信号调节激酶均正调控 c-Fos 蛋白表达水平。施苗苗[28]等的研究表明，Syk/Ras/c-Fos 信号通路 CGN 的发展中的炎症病症有关，Syk/Ras/c-Fos 信号通路主要包括：Ras、Syr、ERK、MEK、c-Fos 等。IL2 又被称为白细胞介素-2；这种蛋白质由 T 细胞响应抗原或有丝分裂刺激产生，是 T 细胞增殖和其他对调节免疫反应至关重要的活动所必需的。冯娟[29]等的研究表明，在恢复期间，COVID-19 患者均有着不同程度的肺功能损伤、肺纤维化的变化。在 IL-17 和 TNF 信号通路中主要包括：IL2、IL4、IL6、IL10、CASP3、IFNG，且 Th17 细胞分泌细胞因子 IL-17，能够促进 TNF- α 、IL-1 β 等细胞因子的表达，通过调控 IL-17 和 TNF 信号通路抑制炎症反应、减少渗出和炎症细胞浸润、保护肺组织。Kundu [30]等的研究表明，microRNA-183/96/182 簇通过诱导白细胞介素-2 介导的抗肿瘤 CD8+细胞毒性 T 细胞反应来抑制肺癌进展和转移。在 Sise Meghan [31]等研究中表明，免疫检查点抑制剂相关性肾炎肾组织中 IL27RA、IL-2 信号传导和 T 细胞受体信号传导的基因表达显著更高。MAPK14 又被称为丝裂原活化蛋白激酶 14，MAP 激酶信号转导途径的重要组成部分包括丝氨酸/苏氨酸激酶。在 Liang Yamei [32]等实验中，敲减 CircESPL1 后可能通过调控 miR-326、MAPK14 来缓解脂多糖引起的肺细胞损伤，为探索小儿肺炎治疗新方法提供一种有希望的方法。林郭健[33]等研究表明，SRC、MAPK1、MAPK14 与肺组织炎症以及纤维化的产生、细胞增加、抑制细胞凋亡等病理过程有着较大的关联，川芎作用于这些靶点，阻断肺组织中肌成纤维细胞的分化，以此来改善 IPF。在 Liu [34]等实验中，MAPK14 和 P-MAPK14 的下调可以通过下调细胞分裂周期 25B 来抑制透明细胞肾细胞癌的增殖和迁移。STAT1 又被称为转录 1- α/β 的信号换能器和激活剂，介导细胞对于干扰素(IFN)、细胞因子(KITLG/SCF)以及其他细胞因子和生长因子的反应。石娟[35]等研究表明，DKK1 作为一种新的潜在治疗靶点，通过抑制 JAK2/STAT1-STAT3 信号通路从而促进 FOXA2——黏蛋白生物合成的主要转录抑制因子的高表达，以此来缓解肺炎支原体 PI-C 引起的黏液蛋白过度分泌造成的肺损伤。Gu [36]等研究表明肾小管间质纤维化的一种表现为肾小管上皮细胞的上皮以及间充质两者之间的转化(EMT)，在高糖诱导的 EMT 过程中，STAT1 激活保护细胞免受 EMT 的侵害；但是高葡萄糖也增加了 STAT1 的泛素相关因子修饰化，从而阻止了 STAT1 通过抑制其活性发挥有效的保护作用。

利用交集靶点进行 GO 及 KEGG 通路富集分析，GO 功能富集分析提示麦味地黄丸“异病同治”IPF 和 T2DM 的生物过程主要与炎症、免疫等相关，这预示着麦味地黄丸在炎症反应、免疫调节等中有非常重要作用，可能是其治疗 IPF 和 T2DM 的原因。KEGG 途径的富集分析显示，PD-L1 表达和 PD-1 检查点通路在癌症中的应用、Th1 和 Th2 细胞分化、Th17 细胞分化、生长激素的合成，分泌和作用、破骨细胞分化、松弛素信号通路、乙型肝炎、冠状病毒病-COVID-19、卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染等通路与

治疗 IPF 和 T2DM 疾病明显相关。PD-L1 表达和 PD-1 检查点通路在免疫反应调节、炎症反应中起重要作用, PD-1 是免疫检测点的抑制性受体, PD-1 与其配体 PD-L1 结合后可以减弱 TCR/CD28 信号传导、抑制 T 细胞的激活, 从而造成肿瘤免疫逃逸[37]。Th1 和 Th2 细胞分化、Th17 细胞分化在免疫和炎症中十分重要, Th1、Th2 以及 Th17 均由 CD⁴⁺T 细胞分化而来, 且 Th1/Th2 免疫失衡使得炎症反应加剧[38]。秦阳[39]等研究表明 IgA 肾病患者存在 Th1/Th2、Th17、调节性 T 淋巴细胞(Treg)失衡, 且在整个发病过程中存在 Th2、Th17 细胞过度活化和 Treg 抑制功能降低。李佩晨[40]等研究表明, 二冬消渴方可通过 Th17/IL-17A 信号通路抑制大鼠眼表炎症反应, 减轻糖尿病相关干眼大鼠的角膜及泪腺损伤。其余通路都与炎症反应以及免疫调节相关。

通过分子对接技术分析发现, 麦味地黄丸与 IPF、T2DM 的交集核心靶点 CREB1、EGFR、FOS、IL2、MAPK14、STAT1 与重要活性成分 Aristolone、Quercetin、Nootkatone 均有较强的结合能力, 表明麦味地黄丸治疗 IPF 及 T2DM 的核心靶点与重要活性成分有良好的亲和力, 从一定程度说明麦味地黄丸“异病同治”IPF 及 T2DM 的作用是通过这些核心靶点实现的。

本研究通过网络药理学和分子对接方法, 阐释了麦味地黄丸“异病同治”IPF 及 T2DM 主要有效成分、作用靶点和通路, 一定程度上揭示了麦味地黄丸治疗 IPF 及 T2DM “异病同治”的作用机制, 为麦味地黄丸的实验研究和临床应用提供了一定的理论依据, 为中药复方的科学研究和中医临床应用提供参考。另外, 本研究尚且还有部分局限性: 首先, 本研究是通过“成分-靶标-疾病”网络的分析, 仅限于对麦味地黄丸整体机制的预测, 目前仍无法确定不同配比、人体代谢前后组中药含量、成分种类差异等; 其次, 由于筛选条件限制, 研究中分析的是麦味地黄丸的主要成分及靶点, 可能无法获得全面具有实质作用的成分; 最后, 基于网络药理学虽能获得大量靶点与机制, 但国内相关动物实验研究较少, 仍需结合实验进一步验证。

参考文献

- [1] 周德生, 吴兵兵. 中医膏方全书[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2018: 34-35.
- [2] 刘晓, 龚婕宁. 特发性肺纤维化中医认识及中西医治疗概况[J]. 山东中医杂志, 2018, 37(8): 699-702.
- [3] 魏媛, 郭思佳, 宋雅琳, 封继宏, 孙增涛. 肺痿、肺痹与肺间质纤维化证候认识[J]. 吉林中医药, 2020, 40(1): 28-32.
- [4] 杨红梅, 赵清鸿, 玉结珍. 活血化瘀法在特发性肺纤维化的应用概况[J]. 中医药临床杂志, 2022, 34(12): 2401-2406.
- [5] 刘卫东, 刘函晔, 张婧瑶, 高歌, 延光海, 张永吉, 崔弘. 自噬在特发性肺纤维化中作用的研究进展[J]. 生理科学进展, 2019, 50(6): 439-443.
- [6] 赵亚东, 马春梅, 姜玲. 大剂量 N-乙酰半胱氨酸联合中药抗纤成方治疗特发性肺纤维化的分组对照研究[J]. 继续医学教育, 2016, 30(12): 164-165.
- [7] 王美措, 董丽, 黄锐, 杨思进. 中药复方治疗肾阴亏虚型 2 型糖尿病的研究进展[J]. 糖尿病新世界, 2022, 25(18): 195-198.
- [8] 王金曦, 石岩, 杨宇峰. 益糖康对初诊气阴两虚型 T2DM 患者胰岛 β 细胞功能及炎症因子影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(8): 163-167.
- [9] 缪卫红. 2 型糖尿病的中医治疗研究进展[J]. 实用老年医学, 2023, 37(2): 116-118+127.
- [10] 国家卫生健康委员会能力建设和继续教育中心. 糖尿病患者合并心血管疾病诊治专家共识[J]. 中华内科杂志, 2021, 60(5): 421-437.
- [11] 全球 5.37 亿成人糖尿病, 中国有 1.4 亿[N]. 医师报, 2021-12-09(B03).
- [12] Bao, S.Y., Wang, X.Z., Ma, Q.Q., Wei, C.X., Nan, J.X. and Ao, W.L. (2022) Mongolian Medicine in Treating Type 2 Diabetes Mellitus Combined with Nonalcoholic Fatty Liver Disease via FXR/LXR-Mediated P2X7R/NLRP3/NF- κ B Pathway Activation. *Chinese Herbal Medicines*, 14, 367-375. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2022.06.003>

- [13] Wang, Z.J., Bai, Z., Yan, J.H., Liu, T.T., Li, Y.M., Xu, J.H., *et al.* (2022) Anti-Diabetic Effects of Linarin from *Chrysanthemi Indici Flos* via AMPK Activation. *Chinese Herbal Medicines*, **14**, 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2021.11.002>
- [14] 刘华元. 麦味地黄丸治案四则[J]. 实用中医药杂志, 2014, 30(10): 969-970.
- [15] 李婷婷, 吕晓东, 庞立健, 刘焯, 王天娇, 刘创. 基于“肺受气于肾”理论从肾论治特发性肺纤维化[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(9): 68-71.
- [16] Wang, Z.Y., Sun, Y.Z., Liu, B.Y., *et al.* (2021) Mechanism of *Salviaemiltiorrhizae* in Treatment of Cerebral Ischemic Stroke Based on Network Pharmacology and Molecular Docking Techniques. *Drug Evaluation Research*, **44**, 344-355.
- [17] 刘晴. 通城虎根等天然植物提取物的抑菌活性及机理研究[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海应用技术大学, 2022.
- [18] Azeem, M., Hanif, M., Mahmood, K., *et al.* (2023) An Insight into Anticancer, Antioxidant, Antimicrobial, Antidiabetic and Anti-Inflammatory Effects of Quercetin: A Review. *Polymer Bulletin (Berlin)*, **80**, 241-262. <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04091-8>
- [19] Andleeb, A., Nadeem, S., Muhammad, S., Ghazala, S., Naz, F. and Tasleem, A. (2022) Quercetin Ameliorates Thioacetamide-Induced Hepatic Fibrosis and Oxidative Stress by Antagonizing the Hedgehog Signaling Pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, **123**, 1356-1365.
- [20] 甘海林, 王珣, 董海轮, 等. 基于网络药理学和实验验证车前子治疗狼疮性肾炎的作用与调控机制[J]. 今日药学, 2022, 32(11): 833-840.
- [21] Cheng, K., Sun, F.Y., Dong, J., Chen, F., Wu, G.H., Zhu, J.P., *et al.* (2020) Network Pharmacology-Based Study on the Mechanism of *Schisandra chinensis* for Treating Alzheimer's Disease. *Indian Journal of Pharmacology*, **52**, 94-101. https://doi.org/10.4103/ijp.IJP_515_19
- [22] Tan, Q.Y., *et al.* (2022) miR-125b-5p Upregulation by TRIM28 Induces Cisplatin Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer through CREB1 Inhibition. *BMC Pulmonary Medicine*, **22**, 469-469. <https://doi.org/10.1186/s12890-022-02272-9>
- [23] Pasricha, S., *et al.* (2022) Angiomatoid Fibrous Histiocytoma: Report of Two Cases, Initially Construed as Sarcoma with Unusual Clinico-Pathological Features. *Indian Journal of Pathology & Microbiology*, **65**, 921-924.
- [24] Kumar, S., *et al.* (2023) Integrated Network Pharmacology and *In-Silico* Approaches to Decipher the Pharmacological Mechanism of *Selaginella tamariscina* in the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Phytomedicine Plus*, **3**, Article ID: 100419. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2023.100419>
- [25] 洪望龙, 夏一淼, 苏广全, 等. 达可替尼对比吉非替尼一线治疗表皮生长因子受体突变晚期非小细胞肺癌的成本-效果分析[J/OL]. 中国医院药学杂志: 1-8. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/42.1204.R.20230227.0831.002.html>, 2023-03-09.
- [26] Harris, R.C. (2021) The Epidermal Growth Factor Receptor Axis and Kidney Fibrosis. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, **30**, 275-279. <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000696>
- [27] 康宁, 张夏男, 刘凯, 等. 细胞外信号调节激酶/c-Jun 氨基末端激酶在炭黑诱导的人胚肺成纤维细胞毒性中对激活蛋白-1 信号通路的作用[J]. 卫生研究, 2021, 50(4): 533-538.
- [28] 施苗苗. 健脾祛湿化痰方调控 miR-339-5p 介导 Syk/Ras/c-Fos 信号通路改善慢性肾小球肾炎的机制研究[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽中医药大学, 2022.
- [29] 冯娟, 闫奎坡, 朱翠玲, 等. 基于网络药理学与分子对接的加减香砂六君子汤治疗新型冠状病毒肺炎恢复期脾胃气虚证的机制研究[J]. 药物评价研究, 2020, 43(9): 1673-1684.
- [30] Kundu, S.T., *et al.* (2022) The microRNA-183/96/182 Cluster Inhibits Lung Cancer Progression and Metastasis by Inducing an Interleukin-2-Mediated Antitumor CD8+ Cytotoxic T-Cell Response. *Genes & Development*, **36**, 582-600. <https://doi.org/10.1101/gad.349321.121>
- [31] Sise, M.E., *et al.* (2023) Soluble and Cell-Based Markers of Immune Checkpoint Inhibitor-Associated Nephritis. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, **11**, e006222. <https://doi.org/10.1136/jitc-2022-006222>
- [32] Liang, Y.M., Miao, Y.Y. and Xiang, J.J. (2022) Circular RNA circESPL1 Knockdown Alleviates Lipopolysaccharide (LPS)-Induced Lung Cell Injury via Sponging miR-326 to Regulate MAPK14. *International Immunopharmacology*, **112**, Article ID: 109146. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109146>
- [33] 林郭健, 王浩然, 夏雪宜, 等. 基于网络药理学与分子对接研究川芎改善特发性肺纤维化的分子机制[J]. 云南民族大学学报(自然科学版), 2023(6): 1-15.
- [34] Liu, J.L., *et al.* (2020) Knockdown of MAPK14 Inhibits the Proliferation and Migration of Clear Cell Renal Cell Carcinoma by Downregulating the Expression of CDC25B. *Cancer Medicine*, **9**, 1183-1195. <https://doi.org/10.1002/cam4.2795>

-
- [35] 石娟, 马春骥, 郝秀静, 等. Dickkopf 相关蛋白 1 抑制肺炎支原体 P1-C 诱导小鼠肺上皮细胞过度分泌 MUC5AC[J]. 生物工程学报, 2023, 39(1): 248-261.
- [36] Gu, C.Y., *et al.* (2023) Role of SUMOylation of STAT1 in Tubular Epithelial-Mesenchymal Transition Induced by High Glucose. *Molecular Medicine Reports*, **27**, Article No. 42. <https://doi.org/10.3892/mmr.2023.12929>
- [37] Egen, J.G., Ouyang, W.J. and Wu, L.C. (2020) Human Anti-Tumor Immunity: Insights from Immunotherapy Clinical Trials. *Immunity*, **52**, 36-54. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.12.010>
- [38] 马若飞, 苏苗, 李金田, 等. 中医药调节 Th1/Th2 免疫平衡治疗慢性阻塞性肺疾病研究进展[J/OL]. 中国实验方剂学杂志: 1-9. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?doi=10.13422/j.cnki.syfjx.202202330>, 2023-03-11.
- [39] 秦阳, 丁樱, 郭婷, 等. CD4+T 淋巴细胞亚群在 IgA 肾病中的作用研究进展[J]. 解放军医药杂志, 2022, 34(10): 114-116.
- [40] 李佩晨, 石李, 沈乎醒, 等. 基于 Th17/IL-17A 信号通路探究二冬消渴方缓解 2 型糖尿病相关干眼大鼠眼表炎症的机制[J/OL]. 中医药信息: 1-12. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/23.1194.R.20230307.1320.004.html>, 2023-03-12.