

基于网络药理学方法探讨芪归通络口服液治疗短暂性脑缺血发作的作用机制

黄金^{1*},高敏^{2#}(1. 广州中医药大学第五临床医学院,广州 510000; 2. 广东省第二中医院脑病科,广州 510000)

中图分类号 R932;R96 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2022)06-0711-08

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2022.06.018

摘要 目的:通过网络药理学方法,探讨芪归通络口服液治疗短暂性脑缺血发作(TIA)的作用机制。方法:运用中药系统药理学数据库与分析平台、中医药百科全书数据库,结合文献检索,获取芪归通络口服液中8味中药的化学成分及作用靶点基因,于GeneCards数据库、人类孟德尔遗传综合数据库中获取TIA疾病对应的靶标基因,交集后获得疾病-药物蛋白靶基因。利用Cytoscape软件构建“单味药-活性成分-作用靶点-疾病”相互作用网络,通过STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络,分别通过WebGestalt富集分析工具和DAVID数据库,对相关潜在作用靶点进行基因本体(GO)功能富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用Autodock软件对筛选出的蛋白与芪归通络口服液活性成分进行分子对接。结果:在芪归通络口服液中筛选出87个与TIA相关的潜在活性成分和40个潜在作用靶点,主要活性成分包括蚓激酶、槲皮素、 β -谷甾醇、木犀草素和异黄酮等,芪归通络口服液治疗TIA的关键靶点包括雌激素受体1、胱天蛋白酶3、凝血因子7、血管内皮生长因子A、纤溶酶原和P2Y嘌呤受体12等。GO功能富集分析显示,生物过程主要涉及多细胞生物过程、刺激反应和生物调节。KEGG通路富集分析得到77条代谢通路,主要涉及缺氧诱导因子1信号通路、血小板活化信号通路、Ras相关蛋白1信号通路和细胞流体切应力与动脉粥样硬化信号通路等。分子对接结果显示,筛选的靶点受体蛋白与活性成分具有较好的结合活性。结论:网络药理学研究结果揭示了芪归通络口服液治疗TIA的多成分、多靶点、多途径的作用特点,并预测了其可能的活性成分、作用通路和关键靶点,为其药效物质基础和作用机制研究提供了理论依据。

关键词 芪归通络口服液;短暂性脑缺血发作;网络药理学;关键基因;分子对接

Mechanism of Qigui Tongluo Oral Liquid in the Treatment of Transient Ischemic Attack Based on Network Pharmacology

HUANG Jin¹, GAO Min² (1. The Fifth Clinical Medical School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510000, China; 2. Dept. of Encephalopathy, Guangdong Second Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangzhou 510000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the mechanism of Qigui Tongluo oral liquid in the treatment of transient ischemic attack (TIA) based on network pharmacology. **METHODS:** Chemical ingredients and target genes of 8 traditional Chinese medicines in Qigui Tongluo oral liquid were obtained by using Traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform, encyclopedia of traditional Chinese medicine and literature search. Targets related to TIA were screened through GeneCards database and on-line Mendelian inheritance in man, the interactive targets of Qigui Tongluo oral liquid and TIA were further acquired. The interaction network of “single drug-active ingredient-target-disease” was constructed by Cytoscape software, and the protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING database. WebGestalt enrichment analysis and DAVID database were used to conduct gene ontology (GO) functional enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis for related potential targets. Autodock software was used to molecularly dock the selected proteins with the active ingredients of Qigui Tongluo oral liquid. **RESULTS:** A total of 87 potential active ingredients and 40 potential targets related to TIA were screened out from Qigui Tongluo oral liquid, the main active ingredients included lumbrokinase, quercetin, β -sitosterol, luteolin and isoflavone. Key targets of Qigui Tongluo oral liquid in the treatment of TIA included ESR1, CASP3, F7, vascular endothelial growth factor A,

* 硕士研究生。研究方向:中医药治疗神经系统疾病。E-mail:102455242@qq.com

通信作者:主任中医师,教授,博士生导师。研究方向:神经系统疾病及心理疾病等。E-mail:37279883@qq.com

PLG and P2RY12. GO enrichment analysis showed that biological processes mainly involved multicellular organismal process, response to stimulus and biological regulation. KEGG pathway enrichment analysis showed 77 metabolic pathways, mainly included hypoxia-inducible factor 1 signaling pathway, Platelet activation signaling pathway, Rap1 signaling pathway, Fluid shear stress and atherosclerosis signaling pathway, etc. Molecular docking showed that the bioactive compounds had good binding activity with the protein receptors of key target genes. CONCLUSIONS: Results of network pharmacology reveals the characteristics of Qigui Tongluo oral liquid in the treatment of TIA with multiple ingredients, multiple targets and multiple pathways, and predicts its possible active ingredients, action pathways and key targets, providing theoretical basis for the study of pharmacodynamic substance basis and mechanism of action.

KEYWORDS Qigui Tongluo oral liquid; Transient ischemic attack; Network pharmacology; Key targets; Molecular docking

短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)是脑、脊髓或视网膜局灶性缺血所致、未发生急性脑梗死的短暂性神经功能障碍^[1]。中国国家卒中登记研究分别于2007年^[2]、2012年^[3]和2015年^[4]基于医院的登记显示,TIA患者占所有以急性脑血管病入院患者的6.20%、8.00%和6.70%。TIA的发病意味着更高的潜在脑卒中风险,研究结果显示,TIA后2 d、7 d、30 d和90 d脑卒中发生概率分别为3.5%、5.2%、8.0%和9.2%^[5-6]。积极的早期干预,对防治TIA进展为缺血性卒中至关重要,目前对于TIA治疗及二级预防的主流意见均以阿司匹林、氯吡格雷为首选^[7-8]。上述两药均有不可忽视的消化系统不良反应,阿司匹林在直接刺激胃黏膜的同时抑制环氧合酶-1,减少前列腺素E₂的黏膜保护作用,引起消化道溃疡甚至出血^[9];氯吡格雷抑制内皮生长因子,加重已存在的胃肠道黏膜损伤^[10]。

清代医家王清任认为“元气不足”是中风病发生的根本原因,立益气活血法,创补阳还五汤^[11]。芪归通络口服液为广东省第二中医院专科特色制剂(批准文号:粤药制字Z20090014),根据补阳还五汤加减化裁,主要由黄芪、当归、三七、赤芍、丹参、地龙、牛膝和鸡血藤8味药物组成,有补气通络、活血化痰和强筋骨之效,在临床被广泛用于各类缺血性脑血管的气虚血瘀证,疗效可靠,不良反应少。但其具体机制尚未深入阐明。本研究应用网络药理学方法,试探索芪归通络口服液治疗TIA的可能作用机制,并进行分子模拟对接的初步验证。

1 资料与方法

1.1 化学成分库的构建

利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <https://tcmspw.com/tcmsp.php>)^[12]、中医药百科全书数据库(ETCM, <http://www.temip.cn/ETCM/>)^[13]并结合文献检索,收集黄芪、当归、三七、赤芍、丹参、地龙、牛膝和鸡血藤的主要化学成分。

1.2 活性化合物的筛选

中医汤剂以口服为主,选取口服生物利用度(OB)、类药性(DL)对化合物的吸收(Absorption)、分布(Distribution)、代谢(Metabolism)和排泄(Excretion)性质进行预测,评价其潜在活性^[14]。将来自TCMSP数据库的化学成分以OB≥30%、DL≥0.18作为筛选条件^[15];来自ETCM数据库的化学成分以Druglikeness Grading评分为“Moderate”或“Good”,

Druglikeness Weight≥0.5作为筛选标准。

1.3 药物与疾病的靶点收集

通过检索TCMSP、ETCM、DrugBank和PubChem数据库,PubMed、中国知网和万方数据库进行文献挖掘收集,获取药物的潜在靶点。通过GeneCards、人类孟德尔遗传综合数据库获取TIA的疾病靶标。

1.4 活性成分-作用靶点网络构建和分析

利用Cytoscape 3.7.0软件^[16]构建中药复方-单味药-活性成分-作用靶点-疾病靶标网络模型,利用Network Analyzer功能获得的度值和中介度等参数对模型进行分析。使用Cytoscape中的Generate style from statistics工具将节点大小、边的粗细与度值、Combine score大小相适应。

1.5 靶点相互作用网络

STRING数据库(<https://string-db.org/>, Version 11.0)^[17]基于多种数据来源和证据,收录丰富的蛋白质及其相互作用信息。将获取的药物-疾病共同靶点导入STRING数据库,得到蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)信息,导出为TSV格式,输入Cytoscape软件绘制PPI网络,并进行分析。

1.6 靶点的分子功能/生物过程和通路富集分析

使用WebGestalt在线工具(<http://www.webgestalt.org/>)^[18]进行基因本体(GO)功能富集分析。选择物种为“homo sapiens”,采用Gene Set Enrichment Analysis(GSEA)富集分析算法,分别对生物学过程(BP)、分子功能(MF)和细胞组成(CC)进行GO富集分析,并绘制柱状图。将筛选得到的交集靶点输入DAVID 6.8数据库中进行京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。

1.7 分子对接

选取活性成分-作用靶点网络中度值较大的活性成分与蛋白靶点进行初步的分子对接验证。从TCMSP数据库下载小分子的mol文件,于PDB数据库(<http://www.rcsb.org/>)获取蛋白的PDB文件。使用Autodock 4.2.6软件^[19]进行蛋白-分子对接,利用Pymol 2.2软件对蛋白进行除氢、去水和去除小分子配体等预处理以及对接结果的可视化展示。

2 结果

2.1 芪归通络口服液中的活性成分及对应的潜在靶点信息

经TCMSP数据库、ETCM数据库以及相关文献检索查找,去除重复项,共获取芪归通络口服液全方符合条件的化学成

分:黄芪 49 种,当归 48 种,赤芍 32 种,牛膝 23 种,丹参 114 种,鸡血藤 41 种,三七 32 种,地龙 8 种,共 347 种化学成分。进一步得到潜在靶点 403 个,疾病靶标 218 个。绘制韦恩图,见图 1。芪归通络口服液、TIA 交集得到 40 个重合靶点,即药物-疾病共同靶点。

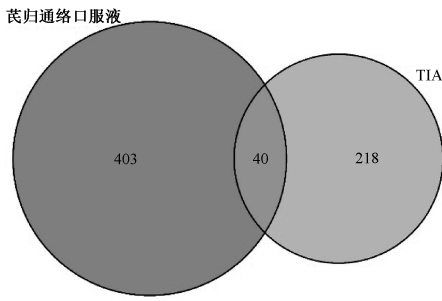


图 1 药物与疾病靶点基因交集韦恩图

Fig 1 Venn diagram of gene intersection between drug and disease target

2.2 活性成分-作用靶点网络构建和分析

利用 Cytoscape 3.7.0 软件构建中药复方-单味药-活性成分-作用靶点-疾病靶标网络,共 137 个节点,357 条边,见图 2。六边形节点表示芪归通络口服液整体复方,八边形节点表示疾病 TIA,正方形节点表示各中药组成,平行四边形节点表示中药所含化学成分,圆形节点表示药物-疾病共同靶点,并依次相互连接。节点度值表示节点在网络中的连接度^[20]。本网络中,度值较高的节点,中药有丹参(30)、黄芪(17)和当归(14);化合物有槲皮素(querctetin)(33)、 β -谷甾醇(beta-sitosterol)(14)、木犀草素(luteolin)(12)和大豆苷元(daidzein)(10);靶点有雌激素受体 1(ESR1)(56)、胱天蛋白酶 3(CASP3)(22)、凝血因子 7(F7)(10)、血管内皮生长因子 A(VEGFA)(10)和白细胞介素 6(IL-6)(10)。

2.3 药物-靶点-疾病相互作用网络构建与分析

通过 Cytoscape 软件绘制 PPI 网络,见图 3。图中共包含 40 个节点,245 个边,节点平均度值为 12.2,平均局部聚类系数为 0.637,PPI 富集均值 $<1.0 \times 10^{-16}$ 。

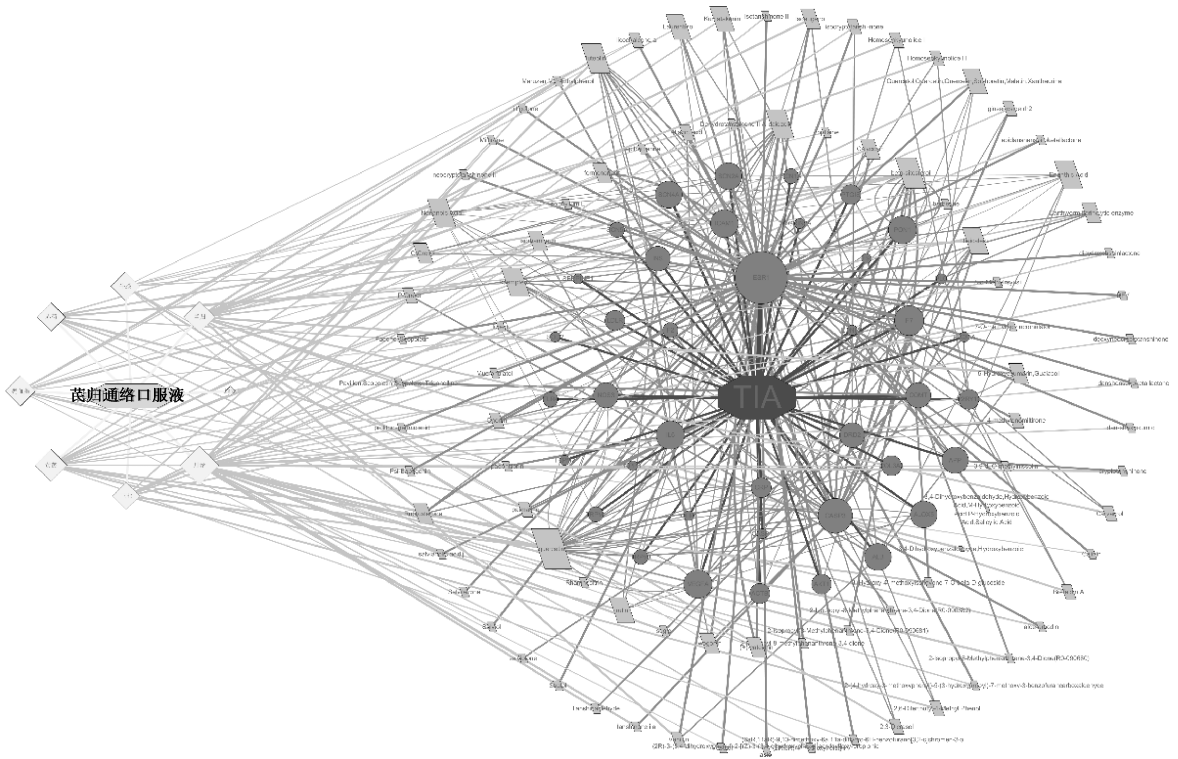


图 2 芪归通络口服液单味药-活性成分-作用靶点-疾病相互作用网络

Fig 2 Qigui Tongluo oral liquid single drug-active ingredient-target-disease interaction network

2.4 预测作用靶点的 GO 功能富集分析

经 WebGestalt 分析平台对潜在作用靶点进行 GO 功能富集分析,绘制柱状图,见图 4。其中,BP 相关主要涉及刺激反应、生物调节、定位和细胞信号传导等;MF 相关主要涉及蛋白质结合、离子结合、水解酶活性、分子转导活性和酶调节活性等;CC 相关主要涉及细胞膜、囊泡、蛋白质复合体、内膜系统、膜封闭腔和细胞外间隙等。结果提示,芪归通络口服液治疗 TIA 相关的关键靶标可能与细胞信号转导、细胞膜和调节酶的

活性等 BP 有一定关系。

2.5 KEGG 通路富集分析结果

通过 KEGG 通路富集分析,获取芪归通络口服液治疗 TIA 相关的通路,得到 $P < 0.05$ 的信号通路 77 条,以 Count 值降序筛选处排序居前 20 位的 KEGG 通路输出柱形图和气泡图。结果提示,关键基因靶点主要涉及糖尿病并发症 AGE-RAGE 信号通路(AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications)、缺氧诱导因子-1 信号通路(HIF-1 signaling pathway)、血小板激

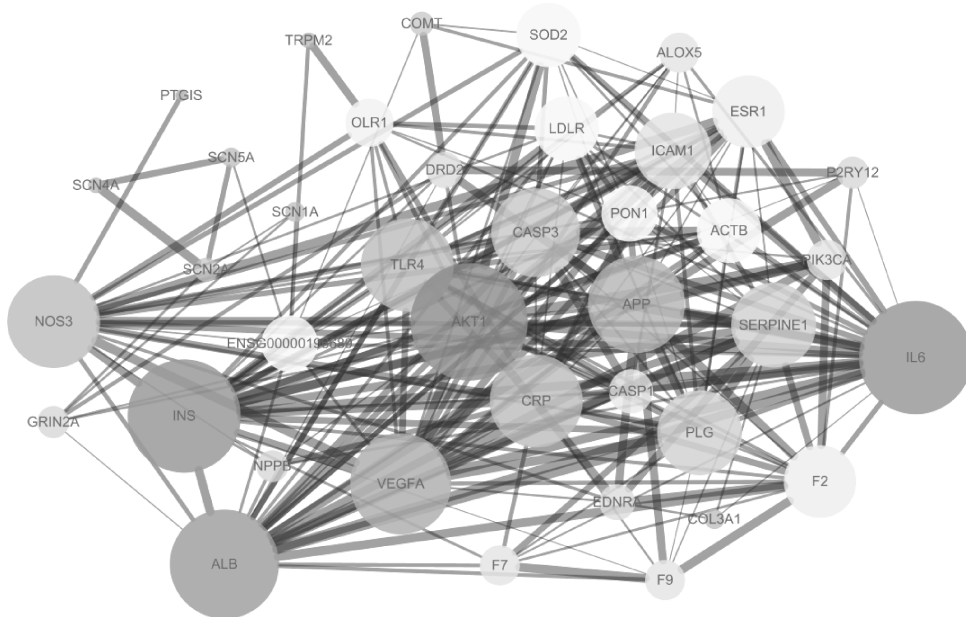
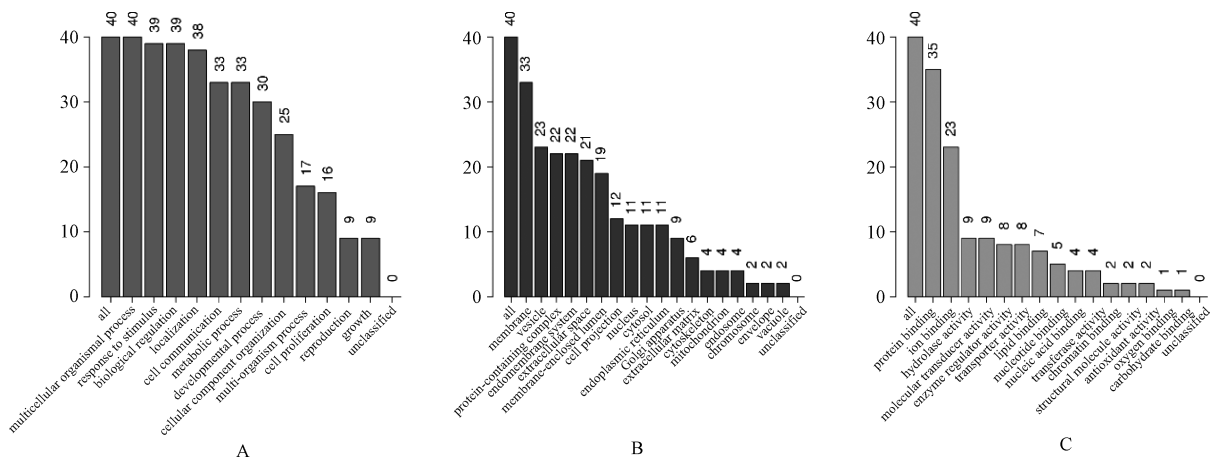


图3 芪归通络口服液靶点相互作用网络

Fig 3 Interaction network of targets of Qigui Tongluo oral liquid



A. BP; B. CC; C. MF

A. BP; B. CC; C. MF

图4 芪归通络口服液治疗TIA关键靶点的GO功能富集分析结果

Fig 4 Results of GO enrichment analysis of key targets of Qigui Tongluo oral liquid in the treatment of TIA

活(platelet activation)和流体剪切力与动脉粥样硬化通路(fluid shear stress and atherosclerosis)等,见图5。

2.6 分子对接结果

图2中节点度值较高的活性成分有槲皮素、木犀草素和大豆苷元,核心靶点蛋白包括CASP3、VEGFA和IL-6,分别进行分子对接验证,结果见表1。并进行分子对接模式图展示,见图6。结果显示,各活性成分与蛋白对接的结合自由能均 <-20.93 kJ/mol,有较高的亲和力^[21]。

3 讨论

本研究进行了“中药-活性成分-靶点”关系网络的构建及多层次功能分析,结果提示,芪归通络口服液中蚓激酶(earthworm fibrinolytic enzyme)、槲皮素、木犀草素、大豆苷元、

表1 主要活性成分与疾病靶点的分子对接结果

Tab 1 Molecular docking results of main active ingredients and disease targets

配体分子	结合能/(kJ/mol)		
	CASP3	VEGFA	IL-6
槲皮素	-23.40	-20.98	-26.20
木犀草素	-26.16	-21.47	-26.87
大豆苷元	-23.86	-23.61	-28.12

丹参酮II A(tanshinone II A)和丹酚酸A(salvianolic acid A)等为芪归通络口服液全方的主要活性成分;ESR1、CASP3、F7、VEGFA、纤溶酶原(PLG)和P2Y 嘌呤受体12等靶标作用于HIF-1、Platelet activation、磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶B(PI3K-Akt)等信号通路是干预TIA的关键路径。

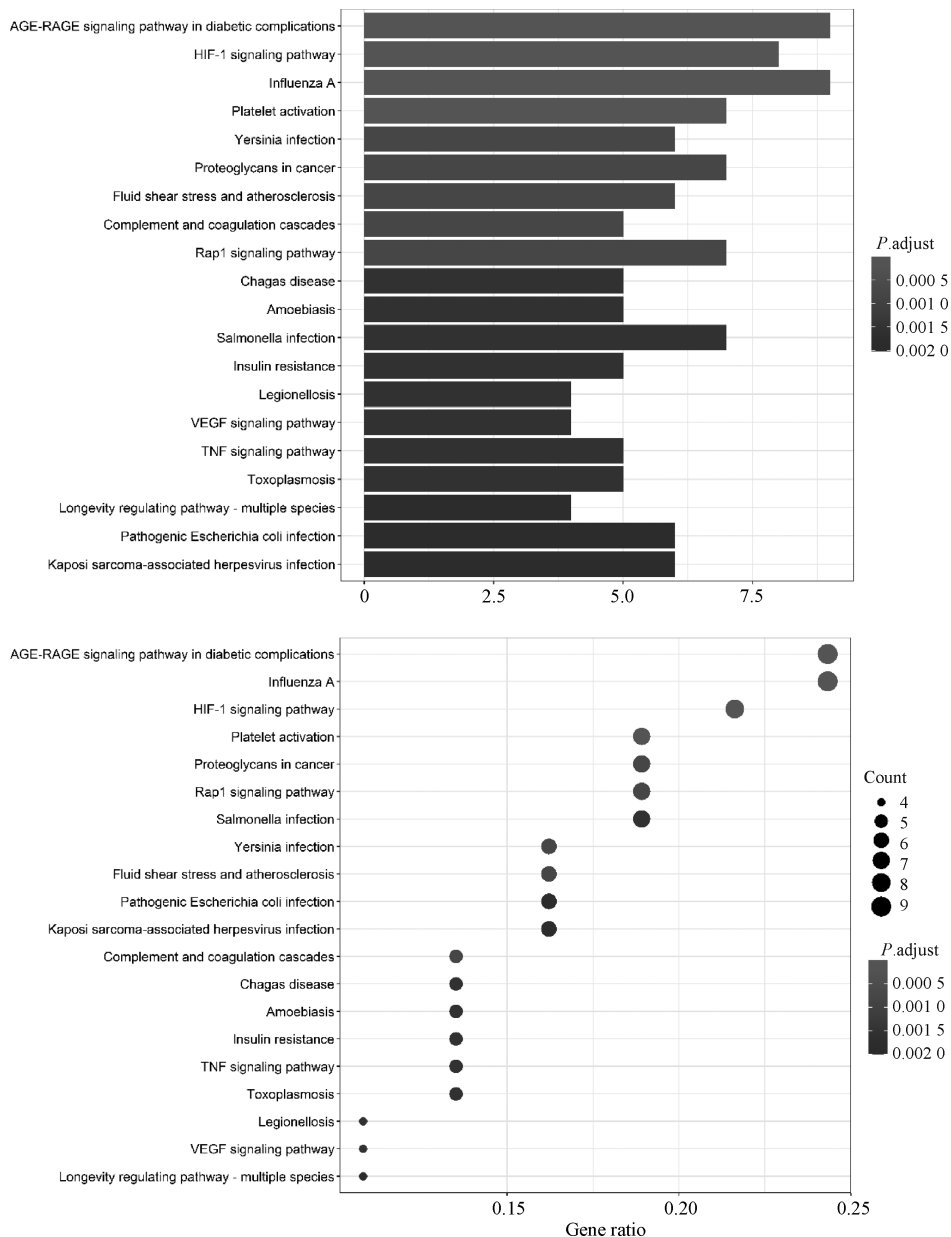


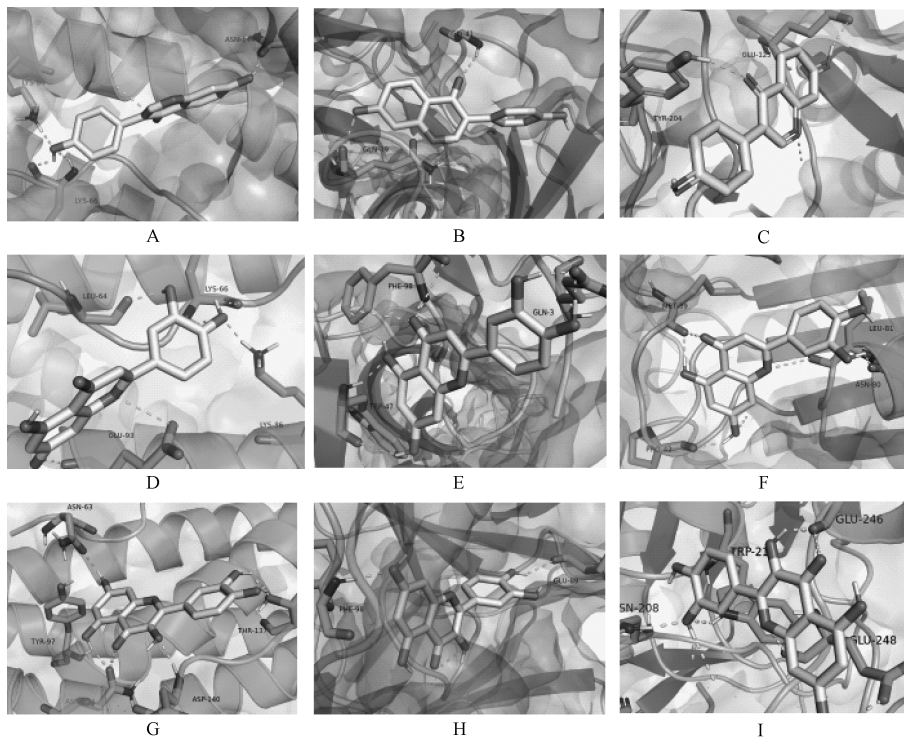
图5 芪归通络口服液治疗TIA潜在核心靶点的KEGG通路富集分析

Fig 5 KEGG analysis of key potential targets of Qigui Tongluo oral liquid in the treatment of TIA

文献统计结果显示,中风病气虚血瘀证的用药中,地龙的使用频次高居第3位,与当归并列,可见其独特作用^[22]。地龙药用历史悠久,《神农本草经》^[23]中已有记载,《滇南本草》^[24]谓其“味苦、辛,性寒。祛风。治……口眼歪斜”。清代医家叶天士指出,虫类药“飞者升,走者降,灵动迅速,追拔沉混气血之邪”^[25],非普通草木、矿石之药所能及。药理学研究结果显示,地龙富含脂类^[26]、蛋白质^[27]、酶类、氨基酸^[28]、微量元素^[29]和核苷酸^[30]等成分,其中蚓激酶在治疗脑血管病中起到核心作用。蚓激酶具有纤溶酶活性,有组织纤溶酶原激活物和抗纤溶酶原激活物抑制剂样作用,能通过激活纤溶酶原,产生降解纤维蛋白和纤维蛋白原的纤溶酶^[31];另一方面,能增加组织间其他纤维蛋白溶酶原激活物的活性,抑制凝血途径^[32]。

《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2010》^[33]推荐,血浆纤维蛋白原和血液黏滞度升高的缺血性脑血管病患者使用蚓激酶进行降纤治疗。本研究的药物-靶点相互作用网络显示,蚓激酶作用于PLG靶点,在一定程度上阐释了虫类药“通经达络,搜剔疏利”独特功效的药理学内在机制。槲皮素为三七、黄芪和牛膝的共有成分,作用于CASP3、F7、VEGFA、IL-6、ALOX5和NOS3等多个靶点。槲皮素通过下调CD80、CD86、MHC-II、IL-6和IL-12的表达,降低刺激T细胞异基因增殖的能力,并上调Dabs蛋白表达,抑制树突细胞成熟,从而下调SRC/PI3K/Akt/核因子κB炎症途径来抑制炎症反应和AS的形成^[34]。

ESR1是本网络构建中最高节点度值的靶点,大量活性成分作用与该靶点相互作用。ESR1作为经典核受体,与神经系



A. IL-6 与大豆苷元对接图; B. VEGFA 与大豆苷元对接图; C. CASP3 与大豆苷元对接图; D. IL-6 与木犀草素对接图; E. VEGFA 与木犀草素对接图; F. CASP3 与木犀草素对接图; G. IL-6 与槲皮素对接图; H. VEGFA 与槲皮素对接图; I. CASP3 与槲皮素对接图

A. docking diagram of IL-6 and daidzein; B. docking diagram of VEGFA and daidzein; C. docking diagram of CASP3 and daidzein; D. docking diagram of IL-6 and luteolin; E. docking diagram of VEGFA and luteolin; F. docking diagram of CASP3 and luteolin; G. docking diagram of IL-6 and quercetin; H. docking diagram of VEGFA and quercetin; I. docking diagram of CASP3 and quercetin

图 6 靶点受体蛋白与活性成分的分子对接模式

Fig 6 Docking mode of receptor proteins and active ingredients

统和内分泌系统活动相关,调控靶基因的转录而发挥“基因型”调节效应^[35]。研究表明,雌激素通过拮抗兴奋性氨基酸毒性^[36]、抗氧化应激^[37]、增加脑部血流量^[38]、抑制凋亡通路^[39-40]和抑制动脉粥样硬化^[41]等多个过程参与调节缺血性脑卒中的发生。芪归通络口服液全方共 52 种成分作用于 ESR1 靶点,其中大豆苷元^[42]、丹参酮 II A^[43]等代表性雌激素成分,起到防治脑血管病的重要作用。

KEGG 通路富集结果显示,在 HIF-1、Platelet activation 等信号通路上有较高的富集程度。缺氧是神经细胞低灌注下的损伤机制之一。HIF 在缺氧应激条件下充当许多缺氧诱导基因的主要调节因子,通过快速调节氧依赖性信号传导级联和下游基因的活化,调节细胞内能量利用水平,以改善缺血性疾病中代谢的变化^[44]。缺氧条件下,经上游的 mTOR、丝裂原激活的蛋白激酶和 PI3K-Akt 多个信号通路作用,激活 HIF-1 α 转录因子,调节下游的 VEGF 信号通路,阻断细胞凋亡^[45],并对神经有直接保护作用^[46];同时激活 iNOS、eNOS,使血管平滑肌松弛,降低血压,并改善局部脑组织再灌注^[47]。抗血小板治疗是目前防治 TIA 的一线选择,本研究结果显示,芪归通络口服液全方在 Platelet activation 信号通路上富集的有 P2Y12、PI3K、Akt、F2 和 eNOS 等靶点。PI3K/AKT 通路是诱导血小板颗粒释放、激活及黏附的上游信号放大途径之一。PI3K 家族中,

PI3K β 、PI3K γ 在血小板信号转导中起着关键作用^[48];PI3K 的激活可致血小板内 Akt 的主要亚型 Akt-1 和 Akt-2 磷酸化,进一步激活下游 eNOS 等靶点,介导血小板激活过程^[49]。丹参中有效成分丹酚酸 A,即通过该信号通路有效抑制下游分子 Akt 的磷酸化,降低血小板激活^[50]。

综上所述,本研究应用网络药理学方法探讨了芪归通络口服液对 TIA 的潜在作用机制,采用分子模拟对接进行了初步验证,为芪归通络口服液多成分、多靶点、多通路综合防治 TIA 的可能作用机制提供了参考,为后续更深入、切实的实验验证研究提供了一定的理论方向。

参考文献

[1] EASTON J D, SAVER J L, ALBERS G W, et al. Definition and evaluation of transient ischemic attack; a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. The American Academy of Neurology affirms the value of this statement as an educational tool for neurologists[J]. Stroke, 2009, 40(6): 2276-2293.

- [2] WANG Y J, CUI L Y, JI X M, et al. The China national stroke registry for patients with acute cerebrovascular events: design, rationale, and baseline patient characteristics [J]. *Int J Stroke*, 2011, 6(4): 355-361.
- [3] WANG Y L, LI Z X, XIAN Y, et al. Rationale and design of a cluster-randomized multifaceted intervention trial to improve stroke care quality in China: the GOLDEN BRIDGE-acute ischemic stroke [J]. *Am Heart J*, 2015, 169(6): 767-774. e2.
- [4] WANG Y J, JING J, MENG X, et al. The Third China National Stroke Registry (CNSR-III) for patients with acute ischaemic stroke or transient ischaemic attack: design, rationale and baseline patient characteristics[J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2019, 4(3): 158-164.
- [5] WU C M, MCLAUGHLIN K, LORENZETTI D L, et al. Early risk of stroke after transient ischemic attack: a systematic review and meta-analysis[J]. *Arch Intern Med*, 2007, 167(22): 2417-2422.
- [6] GILES M F, ROTHWELL P M. Risk of stroke early after transient ischaemic attack: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(12): 1063-1072.
- [7] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作二级预防指南 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4): 258-273.
- [8] PRASAD K, SIEMIENIUK R, HAO Q K, et al. Dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel for acute high risk transient ischaemic attack and minor ischaemic stroke: a clinical practice guideline[J]. *BMJ*, 2018, 363: k5130.
- [9] LANAS A, DUMONCEAU J M, HUNT R H, et al. Non-variceal upper gastrointestinal bleeding[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 18020.
- [10] MA L, ELLIOTT S N, CIRINO G, et al. Platelets modulate gastric ulcer healing: role of endostatin and vascular endothelial growth factor release[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(11): 6470-6475.
- [11] 王清任, 李天德, 张学文. 医林改错[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005:40-41.
- [12] RU J L, LI P, WANG J N, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminform*, 2014, 6: 13.
- [13] XU H Y, ZHANG Y Q, LIU Z M, et al. ETCM: an encyclopaedia of traditional Chinese medicine[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D976-D982.
- [14] SELICK H E, BERESFORD A P, TARBIT M H. The emerging importance of predictive ADME simulation in drug discovery[J]. *Drug Discov Today*, 2002, 7(2): 109-116.
- [15] XU X, ZHANG W X, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6964-6982.
- [16] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [17] VON MERING C, JENSEN L J, SNEL B, et al. STRING: known and predicted protein-protein associations, integrated and transferred across organisms [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(suppl_1): D433-D437.
- [18] LIAO Y X, WANG J, JAEHNIG E J, et al. WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W199-W205.
- [19] MORRIS G M, HUEY R, LINDSTROM W, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility[J]. *J Comput Chem*, 2009, 30(16): 2785-2791.
- [20] 楚善增. 基于局部介一度中心性的网络抗毁性研究[D]. 沈阳: 辽宁大学, 2018.
- [21] GOODSELL D S, MORRIS G M, OLSON A J. Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock[J]. *J Mol Recognit*, 1996, 9(1): 1-5.
- [22] 王建伟, 郭蓉娟, 王嘉麟, 等. 中风病气虚血瘀证用药规律文献研究[J]. *中医杂志*, 2018, 59(1): 69-73.
- [23] 中国医学大成[四七]·神农本草经[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990:37.
- [24] 《滇南本草》整理组. 滇南本草:第三卷[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1978:317-319.
- [25] 叶天士. 临证指南医案[M]. 上海: 上海人民出版社, 1976: 456.
- [26] 肖寄平, 张炜煜, 杨雪, 等. 地龙中脂肪酸成分研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(11): 2760-2762.
- [27] 段晓杰, 罗世林, 汪文琪, 等. 地龙提取液中蛋白质的稳定性研究[J]. *中医药信息*, 2017, 34(2): 31-33.
- [28] 蒋艳红, 刘敏彦, 李向军, 等. 地龙中游离氨基酸的含量测定[J]. *中国中医药信息杂志*, 2003, 10(2): 36-37.
- [29] 赵春桂, 司世麟, 庞敬萍. 蚯蚓微量元素含量测定[J]. *中药通报*, 1988(9): 38-39.
- [30] 季倩, 高守红, 张汉明, 等. HPLC法测定各沪产地龙和广地龙中次黄嘌呤、黄嘌呤、尿嘧啶和尿苷的含量[J]. *第二军医大学学报*, 2015, 36(4): 443-446.
- [31] LI G Q, WANG K Y, LI D H, et al. Cloning, expression and characterization of a gene from earthworm *Eisenia fetida* encoding a blood-clot dissolving protein [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e53110.
- [32] MIHARA H, SUMI H, YONETA T, et al. A novel fibrinolytic enzyme extracted from the earthworm, *Lumbricus rubellus*[J]. *Jpn J Physiol*, 1991, 41(3): 461-472.
- [33] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2010, 2(4): 50-59, 69.
- [34] LIN W Q, WANG W T, WANG D L, et al. Quercetin protects against atherosclerosis by inhibiting dendritic cell activation[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61(9): 1700031.
- [35] ALMEY A, MILNER T A, BRAKE W G. Estrogen receptors in the central nervous system and their implication for dopamine-dependent cognition in females[J]. *Horm Behav*, 2015, 74: 125-138.
- [36] AGUIRRE C, JAYARAMAN A, PIKE C, et al. Progesterone inhibits estrogen-mediated neuroprotection against excitotoxicity by down-regulating estrogen receptor- β [J]. *J Neurochem*, 2010, 115

- (5): 1277-1287.
- [37] BRANN D, RAZ L, WANG R, et al. Oestrogen signalling and neuroprotection in cerebral ischaemia[J]. *J Neuroendocrinol*, 2012, 24(1): 34-47.
- [38] HURN P D, MACRAE I M. Estrogen as a neuroprotectant in stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2000, 20(4): 631-652.
- [39] JIA J, GUAN D N, ZHU W J, et al. Estrogen inhibits Fas-mediated apoptosis in experimental stroke[J]. *Exp Neurol*, 2009, 215(1): 48-52.
- [40] 李润辉, 何志义. 雌激素对去卵巢大鼠局灶性脑缺血的保护作用及对 Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. *中国医药导报*, 2009, 6(14): 9-11.
- [41] SASAKI Y, IKEDA Y, MIYAUCHI T, et al. Estrogen-SIRT1 axis plays a pivotal role in protecting arteries against menopause-induced senescence and atherosclerosis[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2020, 27(1): 47-59.
- [42] KIM E, WOO M S, QIN L Y, et al. Daidzein augments cholesterol homeostasis via ApoE to promote functional recovery in chronic stroke[J]. *J Neurosci*, 2015, 35(45): 15113-15126.
- [43] WANG J, TONG H B, WANG X Y, et al. Tanshinone IIA alleviates the damage of neurocytes by targeting GLUT1 in ischaemia reperfusion model (*in vivo* and *in vitro* experiments) [J]. *Folia Neuropathol*, 2020, 58(2): 176-193.
- [44] SOUSA FIALHO M D L, ABD JAMIL A H, STANNARD G A, et al. Hypoxia-inducible factor 1 signalling, metabolism and its therapeutic potential in cardiovascular disease[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(4): 831-843.
- [45] BAEK J H, JANG J E, KANG C M, et al. Hypoxia-induced VEGF enhances tumor survivability via suppression of serum deprivation-induced apoptosis[J]. *Oncogene*, 2000, 19(40): 4621-4631.
- [46] JIN K L, MAO X O, GREENBERG D A. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in *in vitro* ischemia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(18): 10242-10247.
- [47] BATH P M, KRISHNAN K, APPLETON J P. Nitric oxide donors (nitrates), L-arginine, or nitric oxide synthase inhibitors for acute stroke[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 4(4): CD000398.
- [48] COSEMANS J M E M, MUNNIX I C A, WETZKER R, et al. Continuous signaling via PI3K isoforms beta and gamma is required for platelet ADP receptor function in dynamic thrombus stabilization [J]. *Blood*, 2006, 108(9): 3045-3052.
- [49] CHEN J H, DE S, DAMRON D S, et al. Impaired platelet responses to thrombin and collagen in AKT-1-deficient mice [J]. *Blood*, 2004, 104(6): 1703-1710.
- [50] 黄张森. 丹酚酸 A 通过抑制 3 羧基磷脂酰肌醇激酶 (PI3K) 途径降低血小板激活和动脉血栓形成[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
(收稿日期:2021-05-16 修回日期:2021-08-12)

(上接第 710 页)

意义 ($P > 0.05$), 提示两组方案的安全性相当。

综上所述, 在 OCD 的临床治疗中, 联合契约学习法能增强药物治疗效果, 且不会增加不良反应, 安全性好。

参考文献

- [1] FINEBERG N A, DELL'OSSO B, ALBERT U, et al. Early intervention for obsessive compulsive disorder: an expert consensus statement[J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2019, 29(4): 549-565.
- [2] BEAULIEU A M, TABASKY E, OSSER D N. The psychopharmacology algorithm project at the Harvard South Shore Program: an algorithm for adults with obsessive-compulsive disorder[J]. *Psychiatry Res*, 2019, 281: 112583.
- [3] 闫俊, 李凌江, 季建林, 等. 强迫障碍诊疗概要[J]. *中国心理卫生杂志*, 2014, 28(4): 308-320.
- [4] HUANG Y Q, WANG Y, WANG H, et al. Prevalence of mental disorders in China: a cross-sectional epidemiological study [J]. *Lancet Psychiatry*, 2019, 6(3): 211-224.
- [5] 罗佳, 孟繁强, 刘竞, 等. 认知行为治疗对强迫障碍患者药物治疗依从性的影响[J]. *中国临床心理学杂志*, 2018, 26(1): 175-178, 169.
- [6] KNOWLES M S. Using learning contracts [M]. San Francisco: Jossey-Bass, 1986: 45-200.
- [7] 李铮, 崔香淑. 契约学习法在护理专业中应用的研究进展[J]. *中华护理教育*, 2017, 14(3): 226-229.
- [8] American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders [M]. 5th Edition. Arlington: American Psychiatric Publishing, 1994:96.
- [9] 中华医学会精神医学分会《中国强迫症防治指南》编写组. 中国强迫症防治指南 2016(精编版)[J]. *中华精神科杂志*, 2016, 49(6): 353-366.
- [10] 王铁明, 陆奕庭, 杨哲. 舍曲林联合阿立哌唑治疗强迫症患者的临床效果[J]. *中国民康医学*, 2020, 32(10): 64-66.
- [11] 杨妍. 舍曲林联合行为疗法治疗强迫症患者的临床效果[J]. *中国民康医学*, 2021, 33(1): 69-70, 73.
- [12] 张继平. 舍曲林联合抗精神病药物治疗精神分裂症后抑郁效果及药学研究[J]. *名医*, 2020(6): 269.
- [13] 杨晓沙, 况利. 正念认知疗法在强迫症治疗中的研究现状[J]. *四川精神卫生*, 2019, 32(1): 78-80.
- [14] 王凯风, 范青, 宋立升. 强迫症物理治疗进展[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2019, 45(5): 317-320.
- [15] 严舒雅, 苗浩飞, 罗艳鸽, 等. 认知行为疗法治疗儿童青少年强迫症的脑影像学研究进展[J]. *中华精神科杂志*, 2021, 54(2): 150-154.
- [16] 李庆, 姚熙琳. 综合心理护理改善强迫症患者精神状态的效果分析[J]. *心理月刊*, 2021, 16(2): 105-106.
- [17] FOX R D, WEST R F. Developing medical student competence in lifelong learning: the contract learning approach [J]. *Med Educ*, 1983, 17(4): 247-253.
- [18] 黄敏敏. 契约学习对改善脑卒中患者预后的作用[J]. *中外女性健康研究*, 2017(9): 167-168.
- [19] 黄斌英, 黄志芳, 阳光, 等. 契约学习法在脑卒中患者康复训练中的应用[J]. *现代临床护理*, 2016, 15(5): 26-30.
- [20] 朱红, 荣加. 契约学习对胃溃疡患者自我效能感和生存状态影响的研究[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(12): 1780-1781, 1783.
(收稿日期:2021-01-11 修回日期:2021-12-07)