

基于中医方证代谢组学分析四物汤对自然衰老小鼠的干预作用

西旺, 闫起, 王燕, 李奇玮, 梁华*
(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**通过代谢组学的研究方法观察四物汤对自然衰老小鼠体内代谢物、代谢通路的影响,分析四物汤干预自然衰老小鼠的相关靶点和作用机制。**方法:**选取 20 月龄自然衰老模型小鼠(相当于人类 60~65 岁)作为实验对象,同时设立 3 月龄小鼠作为青年组。运用 UPLC-Q-TOF-MS 技术对小鼠血浆进行分析,流动相含 0.1% 甲酸的乙腈溶液(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~15 min,2%~100% A),选择电喷雾离子源的正离子模式;采用主成分分析(PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(OPLS-DA)研究代谢标志物,并归纳其代谢途径。**结果:**四物汤对 16 种衰老相关代谢物的表达水平有明显回调作用,其中 9 种代谢标志物存在极显著统计学意义($P < 0.01$);主要影响了谷胱甘肽代谢、嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、硒氨基酸代谢等代谢途径。**结论:**四物汤可影响 20 月龄自然衰老小鼠血浆中的代谢物,通过谷胱甘肽代谢、嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢等途径改善小鼠衰老过程中的代谢紊乱,可为该复方后续的干预衰老物质基础研究提供生物学信息。

[关键词] 四物汤;衰老;中医方证代谢组学;血虚证;谷胱甘肽;自然衰老模型;代谢标志物

[中图分类号] R22;R24;Q419;R28;C37;R969.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)12-0009-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.20190307

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.1339.044.html>

[网络出版时间] 2018-11-18 12:31

Analysis of Effect of Siwutang on Natural Aging Mice Based on Chinmedomics

XI Wang, YAN Qi, WANG Yan, LI Qi-wei, LIANG Hua*
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** Through metabonomics research methods, the effect of Siwutang on metabolites and metabolic pathways in natural aging mice were observed. The related targets and mechanism of Siwutang intervention in natural aging mice were analyzed. **Method:** Taking 20-month-old natural aging model mice (equivalent to 60-65 years old of human beings) as the experimental subjects, at the same time, mice aged 3 months were established as the youth group. UPLC-Q-TOF-MS technique was employed to analyze the mouse plasma with mobile phase of acetonitrile (containing 0.1% formic acid) -0.1% formic acid solution for gradient elution and positive ion mode of electrospray ionization, and the metabolic markers were analyzed by principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), and their metabolic pathways were summarized. **Result:** Siwutang had obvious reversal effect on the expression levels of 16 aging-related metabolites, among which 9 metabolic markers were statistically significant ($P < 0.01$), mainly affecting glutathione metabolism, pyrimidine metabolism, arginine and proline metabolism, selenium amino acid metabolism and other metabolic pathways. **Conclusion:** Siwutang can affect the metabolites in the plasma of 20-

[收稿日期] 20180905(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473563)

[第一作者] 西旺,在读博士,医师,从事衰老及营养代谢相关病症的方剂配伍规律研究,E-mail:rongyaoguiyuzhu@163.com

[通信作者] *梁华,博士,教授,博士生导师,从事衰老及营养代谢相关病症的方剂配伍规律研究,Tel:0451-82193000,E-mail:hljzywk@163.com

month-old natural aging mice, and the metabolic disorder during the aging process of mice can be improved by glutathione metabolism, pyrimidine metabolism, selenium amino acid metabolism and other pathways, and this paper can provide biological information for the study of material basis of this compound for aging.

[Key words] Siwutang; aging; chinmedomics; blood deficiency syndrome; glutathione; natural aging model; metabolic markers

中医方证代谢组学^[1]概念是由王喜军教授于 2011 年正式提出的^[2],是从现代医学角度,采用系统生物学研究方法,评价中医方证的诊断标准和中药方剂有效性等问题的研究策略。为了结合证候,深入分析方剂影响机体的侧重点,本实验以四物汤作为切入点,采用“以方测证”的思路揭示中医血虚证影响衰老的生物学基础。

《黄帝内经》认为气血的盛衰影响着人体的生长与衰老,如《灵枢·逆顺肥瘦》中提到“婴儿者,其肉脆、血少气弱”;又如《灵枢·营卫生会》有“壮者之气血盛,其肌肉滑,气道通,营卫之行,不失其常,故昼精而夜瞑。老者之气血衰,其肌肉枯,气道涩,五藏之气相搏,其营气衰少,而卫气内伐,故昼不精,夜不瞑”。说明在机体衰老的过程中会出现不同程度的气虚与血虚。其中气虚多表现为功能的衰退,血虚则更多与衰老的物质基础有关。本课题组前期研究发现治疗血虚证的经典方剂四物汤不仅可以影响衰老雌性大鼠的下丘脑-垂体-性腺轴(HPG 轴)^[3],而且还可以提升 D-半乳糖致衰老模型小鼠的白细胞介素-2(IL-2)水平^[4]。为了进一步明确血虚相关证候影响衰老的生物学基础,寻找“以方测证”“同方异证”等证候学研究的依据。本实验引入代谢组学^[5]的研究方法,通过对生物体内代谢物的动态测定及靶标分析,从多角度探讨四物汤^[6]干预自然衰老小鼠所引起的内源性代谢变化。

1 材料

ACQUITY™ UPLC 型超高效液相色谱仪和 LCT Premier XE 型飞行时间质谱仪(美国沃特世科技有限公司),QL-861 型漩涡混合器(其林贝尔仪器制造有限公司),KDC-160HR 型高速冷冻离心机(科大创新股份有限公司),902-ULTS 型超低温冰箱(德国赛默飞世尔科技有限公司),AL204 型电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

生理盐水(哈尔滨三联药业有限公司,规格 9 g·L⁻¹,批号 140615),水为屈臣氏蒸馏水,甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。四物汤处方组成为熟地黄 12 g,白芍 9 g,当归 9 g,川芎 6 g;所有饮片均由黑龙江中医药大学附属第一医院提供

(经黑龙江中医药大学田明教授鉴定,均符合 2015 年版《中国药典》的相关要求);药物浸泡后加 8 倍量水,文火沸腾,持续 30 min,提取液过滤,药渣再加 6 倍量水煎煮,沸腾后持续 30 min,提取液过滤,混合 2 次滤液,于 80 ℃,0.09 MPa 减压浓缩回收溶剂至 100 mL,配成生药质量浓度为 0.36 g·mL⁻¹的药液。

30 只 SPF 级 3 月龄雄性 ICR 小鼠,由辽宁长生生物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(辽)2010-0001。自由饮水,固体饲料由哈尔滨玉英养殖场提供,室内温度(22 ± 2) ℃,湿度(55 ± 15)%。本文涉及的动物实验经黑龙江中医药大学动物使用与管理委员会批准,批准号 2014120101。

2 方法与结果

2.1 造模及分组方法 采用自然衰老模型,30 只 3 月龄雄性小鼠中随机选取 10 只作为青年组。每日 8:00—8:30 生理盐水灌胃,共灌胃 30 d。取材后至 -80 ℃ 冰箱冷藏。其他 20 只小鼠正常单笼饲养至 20 个月,并随机分为模型组和四物汤组,每组 10 只。饲养至 20 个月龄后,模型组每日 8:00—8:30 以等容生理盐水灌胃。四物汤组予以浓缩药液灌胃,根据种属之间等效计量折算表计算,小鼠与人的系数比为 0.002 6,得出每天给药体积约为 13 mL·kg⁻¹,给药剂量约 4.68 g·kg⁻¹。每 6 d 测量小鼠体质量 1 次,根据小鼠体质量变化,调整给药给水剂量。给药给水前加热至 37 ℃,持续 30 d。

2.2 取材与测定 小鼠在给药后第 30 天禁食,第 31 天摘取眼球取血,置于涂有肝素钠的采血管中,静置 6 h 后经 3 500 r·min⁻¹离心 5 min,留取血浆至 -80 ℃ 冰箱冷藏。每次取小鼠血浆样本 200 μL,加入甲醇 1 mL,4 ℃ 下涡旋离心(12 000 r·min⁻¹)3 min。静置 15 min 后取上清液后重复离心 1 次,取上清液 200 μL 进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。

2.3 检测条件 ACQUITY™ UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm × 50 mm,1.7 μm),流速 0.4 mL·min⁻¹,柱温 40 ℃,样品室温度 4 ℃。流动相含 0.1% 甲酸的乙腈溶液(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 ~ 15 min,2% ~ 100% A)。采用电喷雾离子源(ESI)

正离子模式的毛细管电压 1.3 kV, 样本锥孔电压 60 V; ESI 负离子模式的毛细管电压 1.5 kV, 样本锥孔电压 70 V。脱溶剂气温度 350 ℃, 离子源温度 110 ℃, 脱溶剂气体流速 750 L·h⁻¹, 锥孔气体流速 20 L·h⁻¹。采用亮氨酸-脑啡肽溶液 (leucine-enkephalin, [M + H]⁺ 556.277 1) 为锁定质量溶液。质量扫描范围 *m/z* 100 ~ 1 500。

2.4 数据统计 血液标本经 UPLC-Q-TOF-MS 技术进行预处理, 得总离子流图, 通过 MetaboLynx 4.1 色谱峰识别和峰匹配。数据经 Progenesis Q1 软件处理, 采用主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 进行分析。所得标志物在人类代谢组数据库 (HMDB) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 等数据库以及各大文献网站逐一进行检索, 核对代谢物与衰老的相关性, 选取所有与衰老关联较大的代谢标志物并结合质谱同位素分析, 确定受四物汤影响的潜在标志物, 经 MetPA 数据库构建其代谢通路, 确定具体的代谢途径。

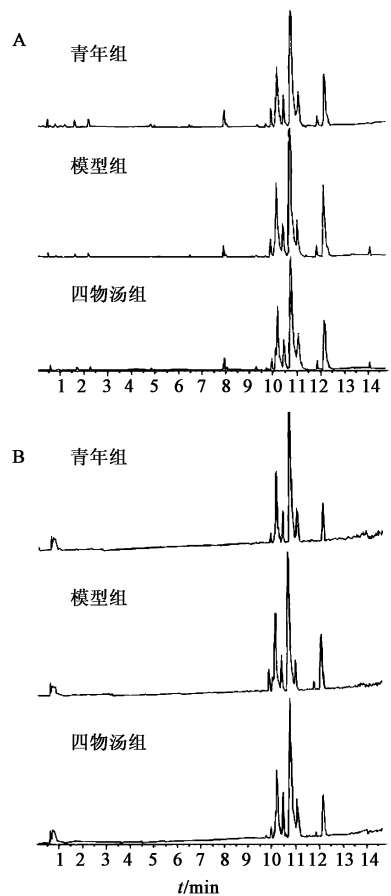
2.5 代谢物的鉴定 将所有血浆标本在正、负离子模式下全扫描, 得到各组小鼠的质谱轮廓总离子流图, 见图 1。结果发现青年组、模型组、四物汤组三者的峰强度出现了一定变化。

2.5.1 OPLS-DA 筛选 将青年组和模型组血液代谢轮廓数据进行 OPLS-DA 处理, 得得分图, 变量投影重要性 (VIP) 图和 S-plot 图, 见图 2 ~ 4, 从中寻找引起代谢轮廓变化的关键性代谢物。筛查条件为 *P* < 0.05, VIP 值 > 2 的标志物, 分析后确定内源性标志物。结果发现模型组在正、负离子条件下均与青年组在 OPLS-DA 的得分图中呈明显分离模式, 说明增龄过程中, 代谢物变化明显。一般情况下, S-plot 图中代谢差异物越靠近“S”两端, 贡献越大; VIP 分析中代谢差异物越靠近“V”两端, 贡献越大。

2.5.2 化合物的鉴定 以 Progenesis Q1 3.0 软件进行分析, 标志物在 HMDB 及 KEGG 等检索数据库进行核对。得到与衰老相关的 23 个生物标志物, 见表 1, 2。

2.5.3 代谢途径分析 青年组、模型组及四物汤组的小鼠样本经 PCA 模式降维处理后, 可显著分离。经 OPLS-DA 模式得分图显示 3 组代谢信息离散程度很强, 3 组样品区分显著, 见图 5。结果说明四物汤可调节小鼠代谢物的表达, 见表 3。

总结每组标志物数据峰面积均值, 观察这些标志物在青年组、模型组和四物汤组的相对质量分数变化, 发现在 23 个代谢标志物中, 四物汤可对其中



A. 正离子模式; B. 负离子模式 (图 2 ~ 5 同)

图 1 3 组小鼠血浆样本的总离子流

Fig. 1 Total ion current chromatograms of plasma samples from three groups of mice

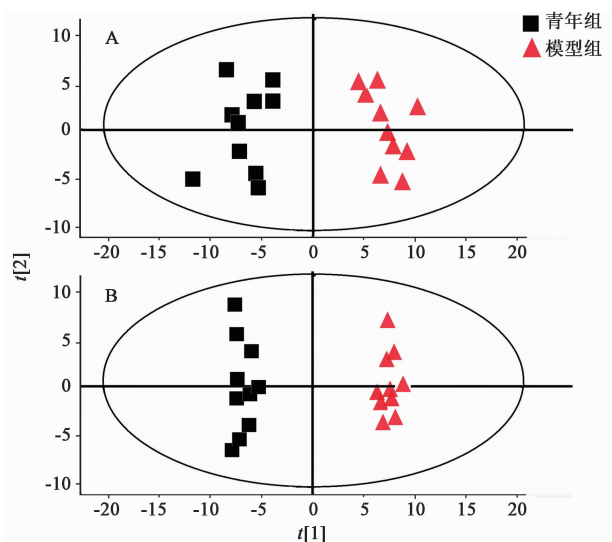


图 2 青年组和模型组的 OPLS-DA 得分

Fig. 2 OPLS-DA score of youth group and model group

16 个起到回调作用, 使 20 月龄小鼠的表达水平向 3 月龄小鼠靠拢。将四物汤组与模型组峰面积进行 *t* 检验, 结果发现其中 9 个标志物具有极显著统计学

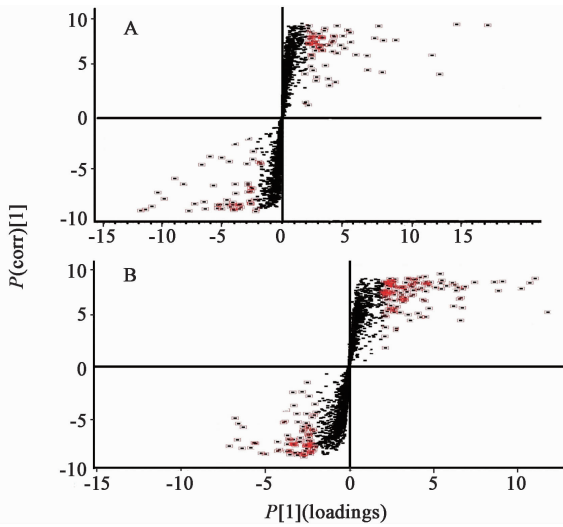


图 3 青年组和模型组的 S-plot
Fig. 3 S-plot of youth group and model group

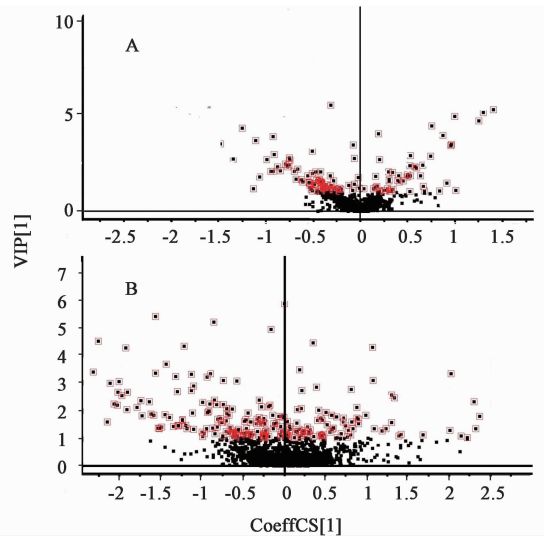


图 4 青年组和模型组的 VIP 值
Fig. 4 VIP values of youth group and model group

表 1 正离子条件下与小鼠衰老相关的代谢物信息

Table 1 Information of metabolites related to aging of mice under positive ion condition

代谢物	分子式	ID	t_R /min	变化	VIP 值
硒半胱氨酸	$C_4H_9NO_2Se$	HMDB04119	0.121 1	↓	2.049 8
L-乙酰肉碱	$C_9H_{17}NO_4$	HMDB00201	0.726 3	↓	1.286 8
十五酰基辅酶 A	$C_{36}H_{64}N_7O_{17}P_3S$	HMDB60165	10.712 9	↑	1.571 8
L-2,4-二氨基丁酸	$C_4H_{10}N_2O_2$	HMDB06284	14.982 9	↑	1.075 2
脱氧辅蛋白	$C_{10}H_{23}N_3O_2$	HMDB11150	12.936 4	↓	2.250 7
二十二碳五烯酸	$C_{22}H_{34}O_2$	HMDB06528	13.214 5	↓	1.065 4
氨基胍	$C_8H_{21}N_3$	HMDB12189	14.839 2	↓	1.797 4
庚醚	$C_9H_{18}O_2$	HMDB00798	14.853 7	↓	1.899 7
磷酸丝氨酸	$C_3H_8NO_6P$	HMDB00272	14.853 7	↓	1.017 4
鸟氨酸	$C_5H_{12}N_2O_2$	HMDB00214	14.968 7	↓	12.07 1
1-苯乙胺	$C_8H_{11}N$	HMDB02017	14.982 9	↓	4.737 9
硫酸雄酮	$C_{19}H_{30}O_5S$	HMDB02759	14.982 9	↓	1.162 7

表 2 负离子条件下与小鼠衰老相关的代谢物信息

Table 2 Information of metabolites related to aging of mice under negative ion condition

代谢物	分子式	ID	t_R /min	变化	VIP 值
蛋氨酸亚砷亚胺	$C_5H_{12}N_2O_3S$	HMDB29430	0.850 6	↓	1.132 6
5-胸苷酸	$C_{10}H_{15}N_2O_8P$	HMDB01227	4.623 1	↑	1.834 0
牛磺酸脱氧胆酸	$C_{26}H_{45}NO_6S$	HMDB00896	10.149 7	↑	1.079 3
7b-羟基-3-氧代-5b-胆烷酸	$C_{25}H_{38}O_4$	HMDB00541	10.590 5	↓	1.181 0
16b-羟司坦唑醇	$C_{21}H_{32}N_2O_2$	HMDB03166	10.638 3	↑	1.746 3
石胆酸 3-O-葡萄糖苷酸	$C_{30}H_{48}O_9$	HMDB02513	10.725 0	↑	1.201 0
8,9-环氧二十碳三烯酸	$C_{20}H_{32}O_3$	HMDB02232	10.753 6	↑	2.232 4
神经节苷脂 GM3	$C_{53}H_{96}N_2O_{21}$	HMDB04842	11.045 6	↑	2.370 3
S-(前列腺素 A ₂)-谷胱甘肽	$C_{30}H_{47}N_3O_{10}S$	HMDB13062	11.857 6	↑	1.109 6
坎利酮	$C_{22}H_{28}O_3$	HMDB03033	12.063 6	↓	1.729 9
二十二碳六烯酸	$C_{22}H_{32}O_2$	HMDB02183	12.946 9	↑	2.663 0

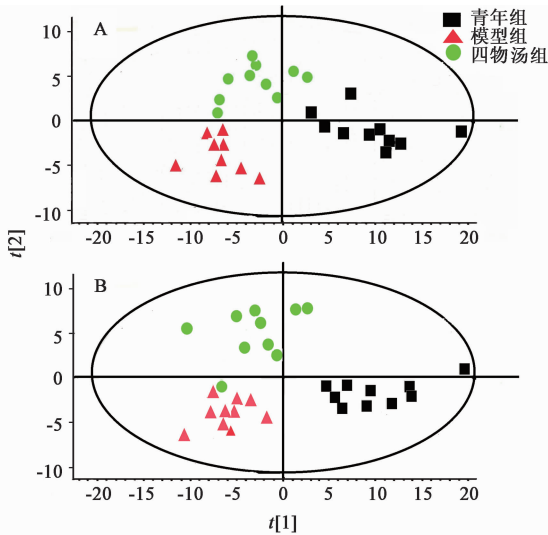


图 5 3 组血浆样本 OPLS-DA 模式处理后得分

Fig. 5 Score of plasma samples in three groups after OPLS-DA analysis

表 3 各组小鼠血浆样本中 16 种标志物的峰面积平均值 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Average peak areas of 16 markers in plasma samples of mice from each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

代谢物	青年组	模型组	四物汤组
蛋氨酸亚砷亚胺	1 922.25 ± 489.46	1 237.22 ± 109.48	1 382.18 ± 403.20
5-胸苷酸	1 240.7 ± 463.11	3 021.07 ± 1 193.31	1 674.51 ± 725.00 ²⁾
牛磺酸脱氧胆酸	80.52 ± 74.57	658.87 ± 352.46	144.74 ± 137.96 ²⁾
石胆酸 3-O-葡萄糖苷酸	1 230.97 ± 201.52	1 860.57 ± 168.03	1 624.81 ± 233.78 ¹⁾
神经节苷脂 GM3	1 925.97 ± 612.21	5 465.34 ± 3 419.73	2 647.81 ± 1 194.11 ¹⁾
S-(前列腺素 A ₂)-谷胱甘肽	403.32 ± 126.08	941.29 ± 186.50	713.78 ± 122.82 ²⁾
坎利酮	5 000.16 ± 493.73	3 695.96 ± 218.98	5 024.11 ± 1 031.24 ²⁾
硒高半胱氨酸	19 704.06 ± 1 615.96	16 527.59 ± 647.04	17 881.64 ± 1 142.41 ²⁾
十五酰基辅酶 A	713.71 ± 394.55	2 559.33 ± 893.68	1 998.28 ± 533.99
脱氧辅蛋白	13 412.88 ± 1 260.5	9 956.77 ± 318.80	10 974.16 ± 546.77 ²⁾
二十二碳五烯酸	3 776.68 ± 680.77	2 746.92 ± 504.38	2 774.26 ± 578.18
氨丙基尸胺	6 343.08 ± 871.05	4 111.39 ± 182.18	4 730.31 ± 333.27 ²⁾
庚醚	6 716.28 ± 1 100.11	4 155.79 ± 298.62	4 548.70 ± 373.65 ¹⁾
鸟氨酸	264 616.30 ± 48 384	159 849.30 ± 7 743.94	182 160.20 ± 15 323.00 ²⁾
1-苯乙胺	40 407.00 ± 7 497.81	24 238.36 ± 1 284.61	27 630.08 ± 2 263.90 ²⁾
硫酸雄酮	1 468.54 ± 1 022.34	236.19 ± 35.56	239.99 ± 43.84

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

谢物标志物,在给予四物汤后,16 个标志物表达水平有所回调。将标志物峰面积进行 t 检验,发现其中 9 个代谢标志物存在极显著统计学意义 ($P < 0.01$)。根据该结果可构建“方剂-自然衰老-生物学信息-证候”的研究模式,并通过代谢标志物信息的挖掘,从生物学角度解释中医血虚理论对衰老的影响。如谷胱甘肽是一种活性三肽,活性中心为游离的巯基,因此能与过氧化物及自由基结合^[8]。谷胱甘肽(GSH)主要受 GSH I 和 GSH II 两酶^[8]催化,可使有害物还原成无毒的羟基化合物,以此保护细胞膜的完整性。如王君明等^[9]研究发现,谷胱甘肽

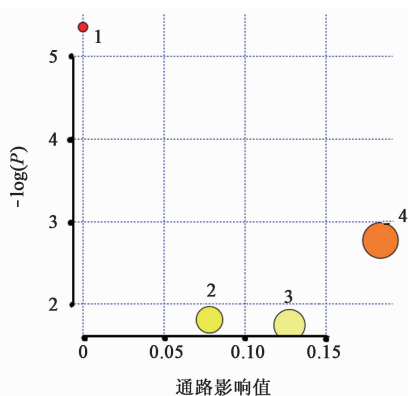
意义 ($P < 0.01$),见图 6。将上述 9 个代谢标志物导入 MetaboAnalyst 4.0 进行通路富集,结果发现四物汤主要影响谷胱甘肽代谢、嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、硒氨基酸代谢。

3 讨论

传统中医理论一直主张从整体角度看待生理病理变化,强调方证的辨证论治^[7]。忽略传统中医方剂理论,仅从单体中药有效成分入手,不能充分揭示方剂整体的作用机制。中医方证代谢组学的提出,利用了系统生物学多层次、多靶点、动态分析的特点,有助于揭示中药方剂理论的物质基础,是连接传统中医理论与现代医学的桥梁之一。

本实验在前期工作基础上,提出血虚证候与衰老相关联的假说。通过代谢组学技术总结衰老小鼠血浆中生物学信息,深入研究补血剂作用于衰老的侧重点。在此过程中发现了 23 种与衰老相关的代

半胱氨酸连接酶是一种特殊的限速酶,当其表达水平异常时,会增加药物对机体的毒性,这亦是中药致药源性肝损伤(DILI)发生的机制之一。随着小鼠年龄的增加,体内 GSH 含量升高,说明伴随年龄的增加,机体细胞损伤加速,自由基增多,过氧化反应加剧。使用四物汤干预后,代谢标志物 GSH 表达有所回调,推测四物汤通过干预氧化应激反应而发挥效用。又如鸟氨酸是机体尿素循环中重要的一环,主要参与循环过程中精氨酸的形成。同时鸟氨酸脱羧酶(ODC)^[10]作为多胺合成过程中第 1 个调节酶,在促进多胺参与细胞分化和增殖过程中有着至关重要



1. 谷胱甘肽代谢;2. 嘧啶代谢;3. 精氨酸和脯氨酸代谢;4. 硒氨基酸代谢

图 6 四物汤影响的代谢途径散点

Fig. 6 Scatter diagram of metabolic pathways affected by Siwutang

要的效用,对生长发育及组织损伤的修复具有特殊意义。另有研究表明,ODC 作为细胞增生的限速酶,涉及多种肿瘤的发生与鉴别,已经成为肿瘤分期和疗效评价的重要参考指标^[11]。随着小鼠年龄的增加,体内鸟氨酸含量下降,可能会出现代谢减慢、尿素循环下降、多种肿瘤的发生几率升高等情况。而在四物汤干预后,代谢标志物的表达有所回调,伴随 ODC 等活性提高,可使细胞有丝分裂加快,促进上皮细胞修复完整。最后分析四物汤影响的 4 条代谢通路发现,硒氨基酸代谢、嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、谷胱甘肽代谢在衰老小鼠体内发生了变化,而代谢途径中的节点明显受到血虚的干扰。四物汤可能通过增强抗氧化作用、调节免疫、清除体内自由基及修复细胞损伤等途径发挥改善衰老状态的作用。

本实验选取小鼠自然衰老模型作为研究对象。衰老的实验模型^[12-13]包括 D-半乳糖致衰老模型、去胸腺衰老模型和自然衰老模型等。其中 ICR 小鼠的自然衰老模型最为贴近于人类。但是衰老是一个十分复杂的过程。虽然上述指标变化确与衰老存在相关性,但仅用 20 月龄模型与 3 月龄小鼠对比仍有一定的局限性,不能反映整个衰老过程中机体代谢物的变化,与衰老相关的代谢途径具体是如何受到四物汤的影响还需进一步研究。

综上所述,四物汤有一定的抗衰老作用^[14-15],而本研究从代谢组学的角度分析四物汤对自然衰老小鼠的干预作用,发现 20 月龄模型组小鼠内源性代谢物与 3 月龄青年组存在明显差异;四物汤可通过谷胱甘肽代谢、嘧啶代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、硒氨基酸代谢等途径改善小鼠衰老过程中的代谢紊

乱。分析代谢标志物与代谢途径可总结出四物汤抗衰老的生物学基础。本课题组下一步研究将分析各个年龄阶段衰老相关代谢物在机体中的持续变化情况,并从系统生物学角度分析中医血虚理论对机体衰老的影响模式。

[参考文献]

[1] 张爱华,孙晖,闫广利,等. 中医方证代谢组学——中医药研究的新策略[J]. 中国中药杂志,2015,40(4):569-576.

[2] WANG X J,ZHANG A,SUN H. Future perspectives of Chinese medical formulae: chinmedomics as an effector[J]. OMICS,2012,16(7/8):414-421.

[3] 梁华,杨丽. 四物汤对老龄雌性大鼠性激素水平的影响[J]. 山东医药,2010,50(20):47-48.

[4] 梁华,孙燕佩,朱明雪. 四君子汤、四物汤对亚急性衰老模型雌性小鼠 IL-2 影响的实验研究[J]. 辽宁中医杂志,2013,40(2):193-194.

[5] SUN Y V,HU Y J. Integrative analysis of multi-omics data for discovery and functional studies of complex human diseases[J]. Adv Genet,2016,93:147-190.

[6] 何瑶,王丽娟,刘婷婷,等. 基于代谢组学技术分析四物汤治疗原发性痛经证的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(12):82-89.

[7] 张亚莉,姚丛. 《方剂学》《中药学》与《药征》带给中医教育的反思[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(8):295-298.

[8] 王玮玮,唐亮,周文龙,等. 谷胱甘肽生物合成及代谢相关酶的研究进展[J]. 中国生物工程杂志,2014,34(7):89-95.

[9] 王君明,崔瑛,申玲玲,等. 中药致药源性肝损伤的氧化应激机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(5):247-249.

[10] Ostrowski J,Wojciechowski K,Konturek S J, et al. Inhibitory effect of EGF on secretory response of rat parietal cells is associated with an induction of ODC[J]. Am J Physiol,1993,264(6Pt1):1428-1433.

[11] 吴兵平,王星,马文丽,等. 鸟氨酸脱羧酶抗酶作为肿瘤治疗靶点的潜在价值[J]. 中国现代医学杂志,2013,23(24):62-66.

[12] 隋雨桐,朱明雪,梁华. 衰老相关疾病模型的研究进展[J]. 中国临床保健杂志,2017,20(3):317-320.

[13] 马慧,尹若熙,郭敏,等. 肉苁蓉多糖对 D-半乳糖致衰老模型小鼠 CREB 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(20):137-141.

[14] 禹良艳,华永庆,朱敏,等. 四物汤及其组成药对对大鼠卵巢颗粒细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):141-144.

[15] 梁华,王燕,李琦玮,等. 四物汤对增龄过程中 12 月龄雄性小鼠调节作用的代谢组学研究[J]. 中药药理与临床,2018,34(1):2-6.

[责任编辑 刘德文]