

# 青黛作用于急性幼粒细胞白血病的可视化 “药靶蛋白模型”分析

王 雪<sup>1</sup> 孙长岗<sup>2</sup>

(1 青岛大学基础医学院, 青岛, 266033; 2 山东中医药大学中医药创新研究院, 济南, 250014)

**摘要** 目的: 目前青黛已是治疗急性幼粒细胞白血病 (APL) 的临床有效药物, 但其分子机制与物质基础仍不明确。基于此本研究构建青黛与 APL 可视化药靶蛋白模型, 以探究青黛作用于 APL 的分子机制。方法: 通过 GEO 数据库检索 APL 微阵列芯片分析 APL 差异表达基因, 使用 TCMSp 数据库筛选青黛活性成分, 结合 PubChem 和 SwissTargetPrediction 匹配活性成分的靶基因并进行富集分析。String 用于挖掘并构建 APL 可视化蛋白互作数据, 将其读入 Cytoscape, 通过 Centiscape 实现网络拓扑分析。综合 APL 差异表达基因, 通过 Sybyl 与青黛活性成分构建药靶蛋白模型。结果: 筛选出 3 张 APL 微阵列芯片, 164 个差异表达基因, 9 种青黛活性成分, 541 个靶基因, 这些靶点较多地参与细胞凋亡、药物结合、癌症途径、慢性粒细胞白血病等, 这些都在 APL 中起重要作用。拓扑分析显示 ELANE, CTSS 为核心基因, 将其与青黛 9 种活性成分进行药靶蛋白模型预测, 显示靛玉红和靛蓝与核心基因结合度最佳。结论: APL 是受多基因调控的复杂疾病, 而青黛成分中靛玉红和靛蓝可通过结合 ELANE, CTSS 作用于 APL 的发生发展。

**关键词** 急性幼粒细胞白血病; 青黛; 药靶蛋白模型; 靛玉红; 靛蓝; 基因; 网络药理; 生物信息

## Analysis of Visible “Drug Target Protein Model” of Natural Indigo on Acute Promyelocytic Leukemia

WANG Xue<sup>1</sup>, SUN Changgang<sup>2</sup>

(1 Qingdao University, School of basic medicine, Qingdao 266033; 2 Shandong University of Traditional Chinese Medicine, TCM innovative research institute, Ji'nan 250014, China)

**Abstract Objective:** At present, Natural Indigo has been used as a clinical drug for the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL), but its effective molecular mechanism and material basis are still unclear. The purpose of this study is to construct the visible model of Natural Indigo and APL drug target protein, and to explore the molecular mechanism of Natural Indigo acting on APL. **Methods:** The APL microarray chip was searched through the GEO database to analyze the disease differentially expressed genes. The TCMSp database was used to screen the active ingredients of Natural Indigo. PubChem and SwissTarget Prediction were Combined to match target genes of active ingredients and enrichment analysis of target genes was done. String was used for further text mining and constructing a APL visual protein interaction network, the interaction data was read into Cytoscape, the network topology analysis was done through the plugin Centiscape. After comprehensive analysis of APL differentially expressed genes, Sybyl was constructed of drug target protein model with Natural Indigo active ingredients. **Results:** Three APL disease-related microarray chips, 164 differentially expressed genes, 9 Natural Indigo active components, 541 component target genes were screened. These targets are more involved in apoptosis, drug combination, cancer pathway, chronic myelogenous leukemia, etc., all of which play an important role in APL. Topological analysis showed that ELANE and CTSS were core genes, the drug target protein model prediction with the 9 active ingredients of Natural Indigo shows that indirubin and indigo have the best binding to core genes. **Conclusion:** APL is a complex disease regulated by multiple genes. The indirubin and indigo in Natural Indigo can act on the development of APL by combining ELANE and CTSS.

**Keywords** Acute promyelocytic leukemia; Natural Indigo; Drug target protein model; Indirubin; Indigo; Gene; Network pharmacology; Biological information

中图分类号: R285.6 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2020.12.004

急性早幼粒细胞白血病 (Acute Promyelocytic Leukemia, APL) 是急性髓系白血病的 M3 亚型, 根据

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81973677)——药物分子网络拟合模式指导下青黄散作用于急性早幼粒细胞白血病药靶蛋白机制的“分子动力-3D-QSAR”微观呈现; 国家自然科学基金项目 (81673799)——蛋白质相互作用网络与分子对接技术指导下青黄散对慢粒的作用机制研究; 国家自然科学基金青年基金项目 (8170141760)——基于“血清药物化学-计算机辅助分子预测-药靶蛋白协同”三维模式下青黄散治疗慢粒的配伍机制研究

作者简介: 王雪 (1994.03—), 女, 硕士研究生在读, 研究方向: 中西医结合肿瘤与血液病, E-mail: 17861431558@163.com

通信作者: 孙长岗 (1970.12—), 男, 博士, 主任医师, 研究方向: 中西医结合肿瘤与血液病, E-mail: 1241670582@qq.com

其发热、出血、贫血、感染和浸润等临床表现,可归类于中医“虚劳”“血证”“温病”等范畴。古代文献中虽无白血病之名,但有较多疾病症状的相似记载。《圣济总录》:“热劳之证,心神躁、面赤、头痛、眼涩、唇焦、身体壮热,烦渴不止,口舌生疮,食欲无味,肢体疼痛,多卧少起或时汗,日渐羸瘦者是也”<sup>[1]</sup>。《素问·腹中论》记载:“病至则先闻腥臊臭,出清液,先唾血,四肢清,目眩,时时前后血……病名血枯”<sup>[2]</sup>。《普济方》曰:“夫热劳者,由心肺实热,伤于气血,气血不和,脏腑壅滞,积热在内,不能宣通所致也”<sup>[3]</sup>。上述症状均与 APL 的临床表现相似。应用全反式维甲酸、三氧化二砷联合化疗是 APL 的标准治疗方案<sup>[4]</sup>,这很大程度上提高了疾病缓解率,但是维甲酸综合征、高白细胞危象、高颅压综合征等不良反应和高复发率促使临床不断探究新的治疗方法,而中药效缓、稳定、不易产生耐药性更可以缓解化疗的不良反应,使中药成为 APL 的综合治疗中不可或缺的一部分。周霭祥教授临床应用青黛治疗白血病多年<sup>[5]</sup>,疗效确切,但其作用机制尚不明确,值得进一步探究。

## 1 研究对象

青黛,别名靛花、靛沫、蓝靛,为双子叶爵床科植物马蓝、蓼科植物蓼蓝、豆科植物木蓝或十字花科植物菘蓝的茎叶经加工制得的干燥粉末或团块,味咸苦,性寒,归肝经,具有清热解毒、凉血止血、入营化斑、清肝泻火等功效,主治温病热盛、小儿惊痫、斑疹、吐血、咯血、疮肿、丹毒、蛇虫咬伤等。青黛在古代医书中的药用记载始于《药性论》<sup>[6]</sup>,君,味甘,平。能解小儿疳热,消瘦,杀虫。另《本草求真》<sup>[7]</sup>云,青黛专入肝,系蓝靛浮沫,搅澄,掠出取干而成。味咸性寒,色青,大泻肝胆实火及肝经郁热。《本草衍义补遗》<sup>[8]</sup>所言青黛能收五脏之郁火,解热度,泻肝,消食积。可见先人对于青黛的药效有所肯定,而自二十世纪九十年代有大量的成功病例显示将青黛及其方剂用于治疗急性早幼粒细胞白血病有良好的治疗效果<sup>[9-11]</sup>。有研究证实<sup>[12]</sup>青黛的有效成分靛玉红具有抗肿瘤活性,用同位素标记前体分别渗入肿瘤组织的 DNA、RNA 及蛋白质的研究显示,靛玉红可以抑制急性幼粒细胞白血病患者的白血病细胞的 DNA 合成代谢,轻微抑制 RNA 合成,证实青黛有抗肿瘤的作用,但没有系统的青黛与 APL 的研究。为详细的阐明青黛活性成分与 APL 的相互作用,本文通过构建青黛与 APL 药靶蛋白模型可视化青黛作用于 APL 的内在机制,为青黛治疗 APL 提供理论基础。

近年来,随着系统生物学的不断创新和发展,可

视化模型模拟技术为探索中药有效成分干预的内在原理,构建中医药多靶点精确治疗模式提供了可行的研究策略。本研究通过以下方面探究青黛与 APL 的作用机制:1)检索 APL 疾病表达数据,并分析差异表达基因;2)筛选青黛的活性成分,预测活性成分靶基因;3)分析 APL 差异表达基因与青黛活性成分可能的作用靶基因的关系,筛选出核心基因;4)核心基因与青黛活性成分构建可视化药靶蛋白模型。通过以上分析来探究青黛与 APL 的内在关系,为中药作用于疾病系统的提供理论见解。

## 2 研究方法

2.1 APL 差异表达基因 基因表达数据库(GEO, GENE EXPRESSION OMNIBUS, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>)隶属于美国国立卫生研究院,是现在最大最全面的公共基因表达数据资源<sup>[13]</sup>。从 GEO 中检索 apl 的微阵列芯片,设定筛选条件为“Homo sapiens”,共检索到 917 张 APL 相关芯片。进一步分析每张芯片的样本数据后确定 3 张芯片作为 APL 的疾病数据,即 GSE34823, GSE12662, GSE995。将每张芯片的 APL 疾病样本和正常对照样本进行分组,通过 GEO2R 进行差异表达基因分析,得到差异表达基因后进行筛选,条件设置为  $\text{adj. } P\text{-Val} < 0.05$  且  $|\log \text{FC}| > 1$ 。

2.2 青黛所含活性成分的收集与处理 中药系统药理学数据库(TCMSP, <http://lsp.nwu.edu.cn/tcm-sp.php>)由中华人民共和国药典记载的 499 种中药组成,含有 29 384 种成分,3 311 种靶点,837 种相关疾病<sup>[14]</sup>。提供了人体口服生物利用度、半衰期、药物相似性、Caco-2 通透性和血脑屏障等 12 项重要的 ADME 相关特性来进行药物筛选和评价。通过 TCMSP 获取青黛的活性成分,根据成分的药物动力学参数进行筛选,将口服生物利用度(OB)  $\geq 30\%$  且成药相似性(DL)  $\geq 0.18$  作为筛选条件。结合有机小分子生物活性库(PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)和 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)预测每个活性成分对应的靶基因。

2.3 基因分析 DAVID (DAVID: <https://david.ncifcrf.gov/>)是一个全面的功能注释工具,能够分析大量基因背后的生物学意义<sup>[15]</sup>。将青黛靶基因上传至 DAVID 进行基因本体论(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)分析,显示路径的截止阈值设为  $P < 0.05$ 。

2.4 网络构建 String 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 是一个预测已知蛋白相互作用关系的在线数据库,共有 5 090 个物种和 24 584 628 种蛋白<sup>[16]</sup>。Cytoscape 是一个专注于蛋白质网络可视化和分析的软件,其核心是提供基础的功能布局 and 查询网络<sup>[17]</sup>。利用 String 数据库和 Cytoscape

3.5.1 软件构建 APL 差异表达基因的蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络。使用 Centiscape 2.2 对 PPI 网络进行拓扑分析。Centiscape 2.2 插件基于直径,度数,压力,中介性,放射性,紧密度,质心值,离心值执行拓扑分析,筛选出最显著的差异表达基因为核心基因。

2.5 可视化药靶蛋白分析 应用 Sybyl X8.1 中的 Surflex Dock 程序构建青黛活性成分与 APL 显著差异基因的可视化药靶蛋白模型。在 PubChem 数据库获取青黛活性成分的小分子文件作为配体,从 PDB 数据库中下载拓扑分析得出的 ALP 显著差异基因三维晶体结构作为受体,除去晶体分子所有的水分子和小分子配体,并加极性氢,加载电荷,构建活性口袋。再输入小分子文件,分别构建药靶蛋白模型。用配体受体亲和力的一致性评分函数进行打分,并对药靶蛋白模型进行观察、分析。

### 3 结果分析

3.1 基因比较分析 通过数据库筛选出青黛的 9 个活性成分。见表 1。成分的作用靶基因 541 个。分析 APL 3 张芯片后,发现 GSE34823 含有 626 个差异表达基因, GSE12662 含有 13 481 个差异表达基因, GSE995 含有 2 128 个差异基因。Veen(<https://>

bioinfo. cnb. csic. es/tools/venny \_ old/index. html )  
在线分析后,得到 164 个三芯片共同差异基因,即 APL 差异表达基因。见图 1。将 541 个青黛作用靶点基因和 164 个 APL 差异表达基因比较分析,发现共同重叠基因 10 个,分别是 ELANE, CFD, CTSS, QPCT, MCL1, TYMP, PRKCH, CCNA1, DYRK2, CTSL。

3.2 青黛靶基因富集功能 通过 DAVID 6.8 工具对青黛作用靶基因进行 GO 和 KEGG 通路的功能富集,从而揭示青黛治疗 APL 的潜在作用机制。结果得出青黛靶基因主要富集到的功能涉及凋亡过程的负调控、细胞内信号转导、细胞增殖、细胞核等 GO 功能和癌症、PI3K-Akt、cAMP、病毒致癌、神经活性配体-受体相互作用等 KEGG 通路,与 APL 密切相关。见图 2。

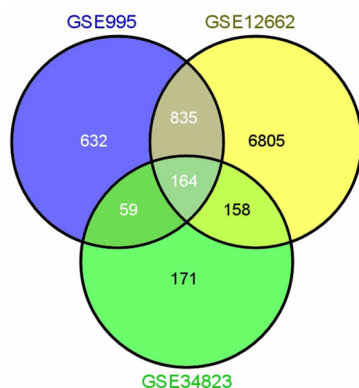


图1 GSE34823,GSE12662,GSE995 3 张 APL 芯片  
差异表达基因的交集

注: APL: 急性幼粒细胞白血病

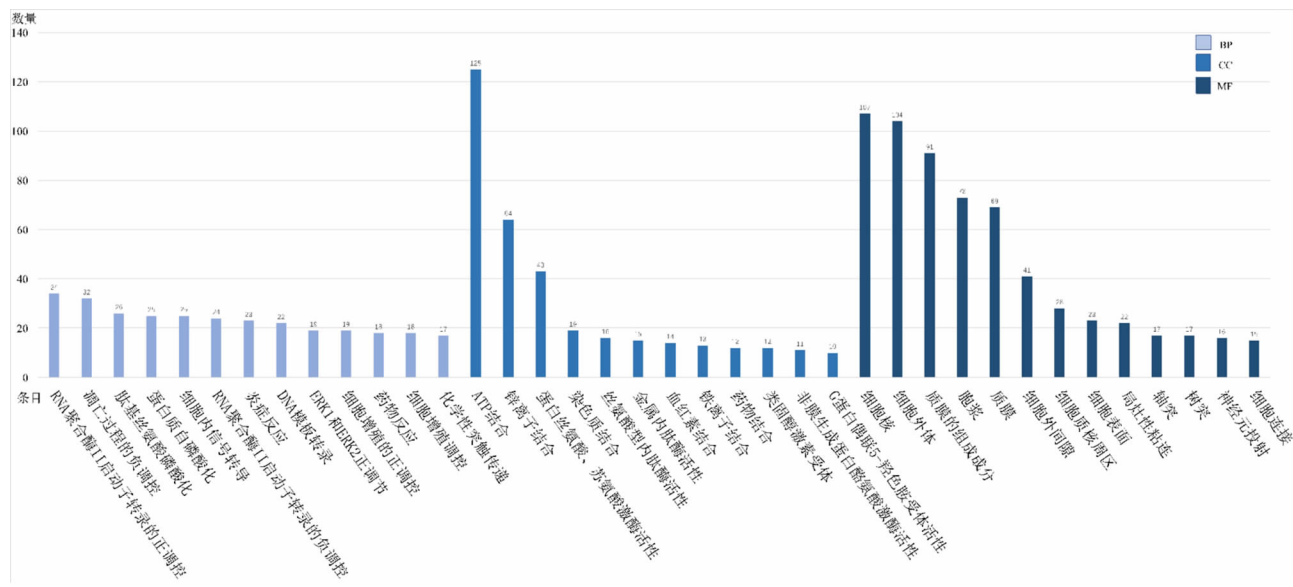
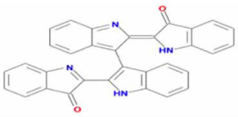
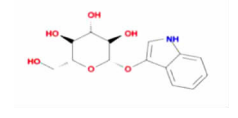
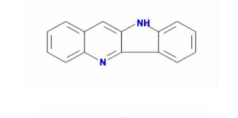
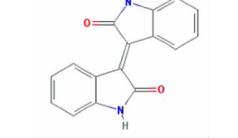
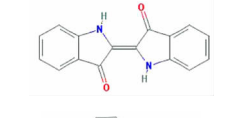
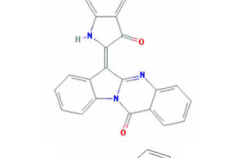
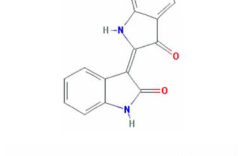
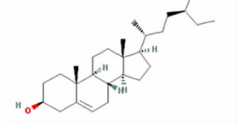
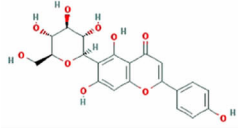


图2 对青黛作用靶基因进行 GO 富集分析

注:CC:分子功能,BP:生物过程,CC:细胞成分

表 1 青黛的活性成分 OB:口服生物利用度;DL:成药相似性

| 编号        | 名称                              | 结构                                                                                  | OB(%) | DL   |
|-----------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|
| MOL011100 | 双靛素                             |    | 41.66 | 0.39 |
| MOL011105 | 靛甙                              |    | 34.9  | 0.23 |
| MOL011332 | 10 h-吲哚[3,2-b]喹啉                |    | 54.57 | 0.22 |
| MOL011335 | 异靛蓝                             |    | 94.3  | 0.26 |
| MOL001781 | 靛蓝                              |    | 38.2  | 0.26 |
| MOL001810 | 6-(3-氧吲哚-2-亚立德)吲哚[2,1-b]喹啉-12-酮 |   | 45.28 | 0.89 |
| MOL002309 | 靛玉红                             |  | 48.59 | 0.26 |
| MOL000358 | β-谷甾醇                           |  | 36.91 | 0.75 |
| MOL002322 | 异红草苣                            |  | 31.29 | 0.72 |

3.3 APL 网络构建分析 通过 Cytoscape 软件构建出 APL 蛋白-蛋白相互作用网络,由 145 个节点和 824 条边组成。见图 3。根据拓扑学指标 Degree unDir, Degree unDir 值最大的节点处于 PPI 网络调控的中心,故选择 Degree unDir≥17.5% 来筛选此网络核心节点,即 ITGAM, CXCL8, ELANE, ITGB2, CD86, CTSS 等。见图 4。我们综合分析结果,筛选出此网络的核心节点 ELANE, CTSS 既是青黛靶基因和 APL

差异表达基因的共同重叠基因又是 PPI 网络的核心节点,故选择这 2 个基因最下一步药靶蛋白构建。

3.4 青黛活性成分与 APL 可视化药靶蛋白构建 通过将 2 个核心基因 ELANE、CTSS 与青黛 9 种活性成分构建药靶蛋白模拟发现,青黛的活性成分靛玉红、靛蓝与 ELANE, CTSS 结合度较高,提示靛玉红、靛蓝干预 ELANE, CTSS 可能在青黛治疗 APL 中起重要作用。见图 5。

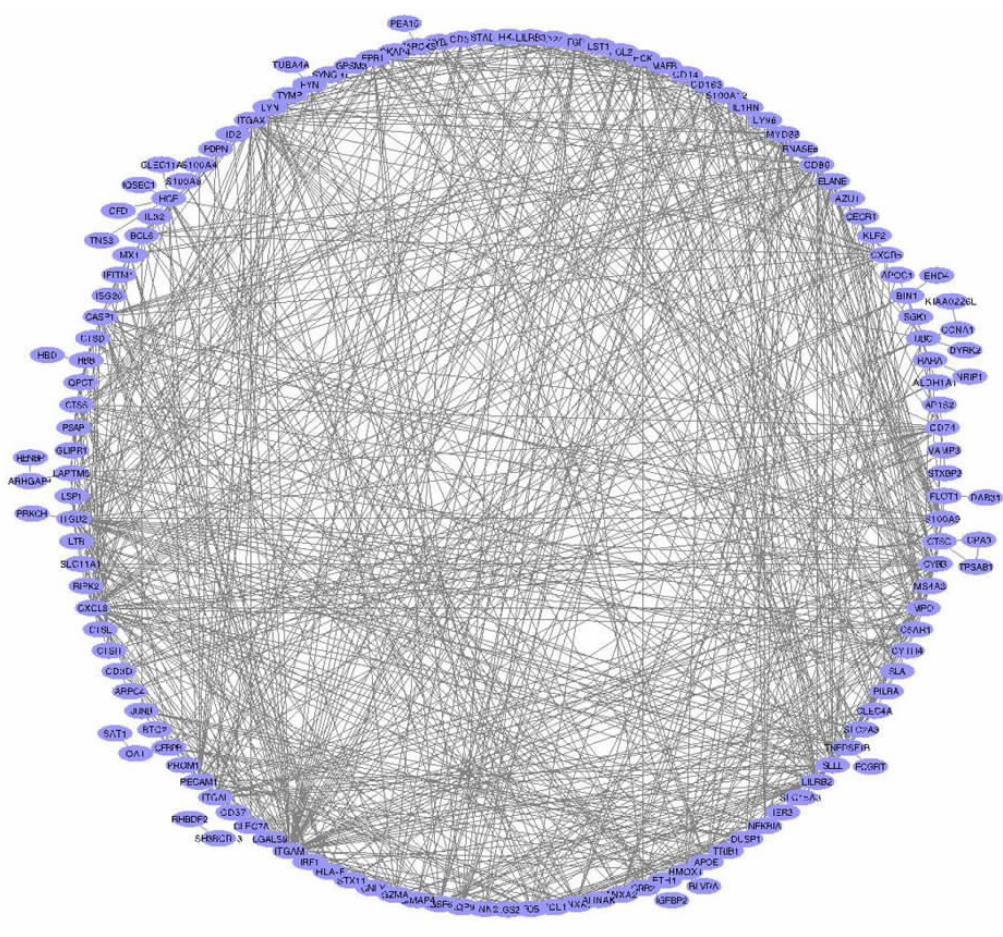


图3 APL 蛋白-蛋白相互作用网络

注:APL;急性幼粒细胞白血病

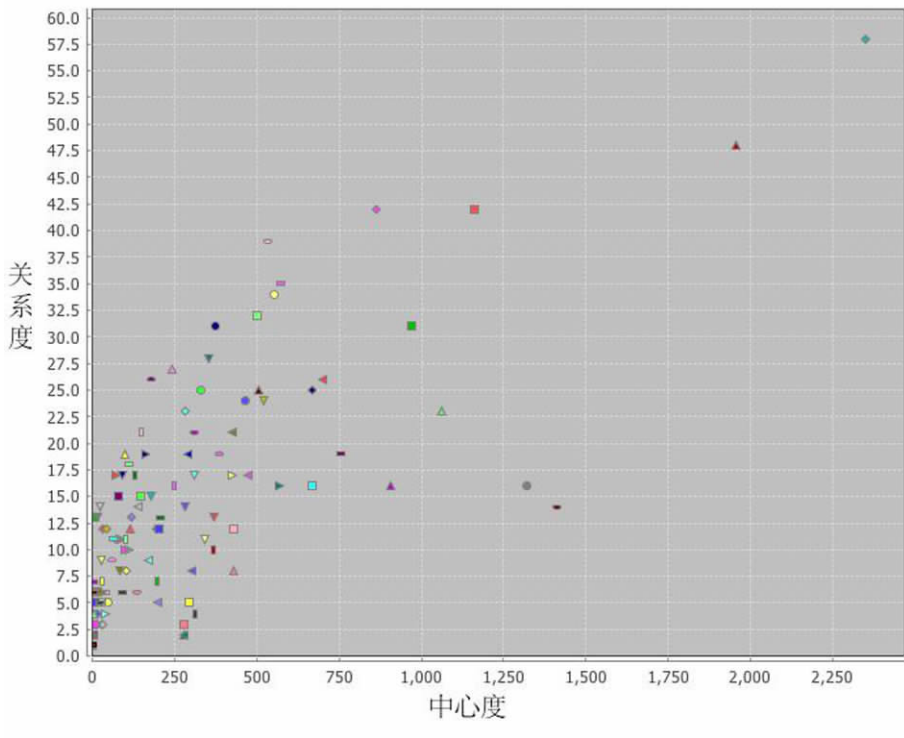


图4 APL 网络拓扑属性分析

注:APL;急性幼粒细胞白血病

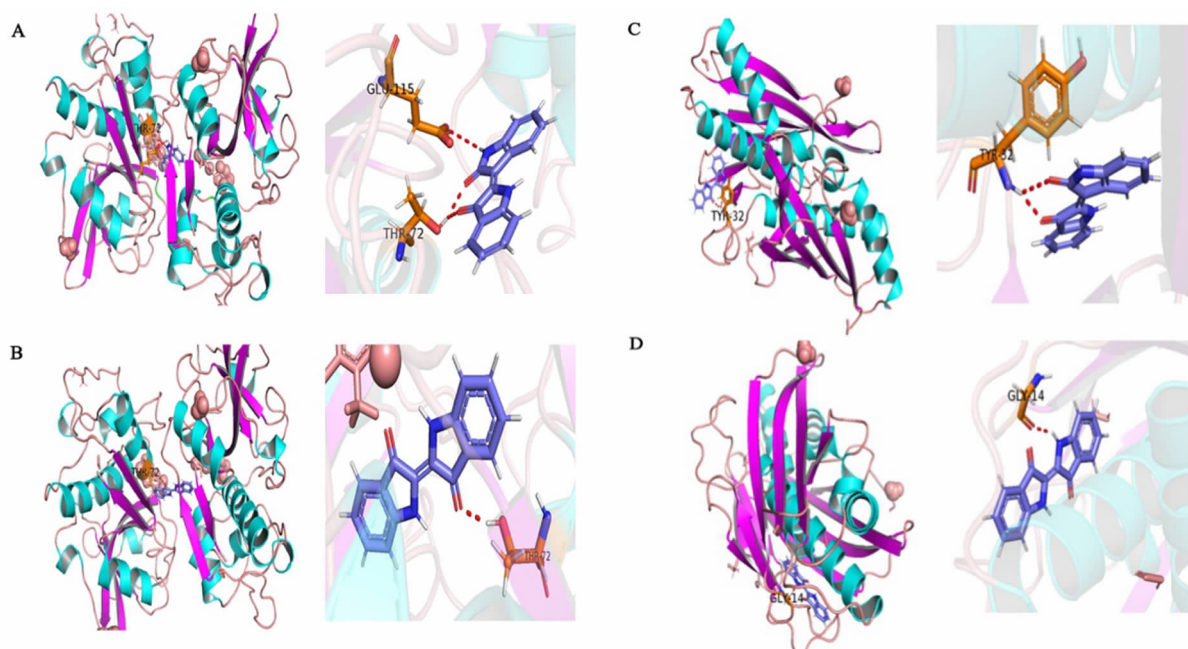


图5 ELANE、CTSS 与靛玉红、靛蓝的药靶蛋白模拟

注:ELANE 与靛玉红(A)、靛蓝(B);CTSS 与靛玉红(C)、靛蓝(D)

#### 4 讨论

APL 是属于急性非淋巴细胞白血病的恶性肿瘤,占成人急性非淋巴细胞白血病 10%~15%,发病中位年龄约 40 岁,男女发病率基本相等<sup>[18]</sup>。西医学认为 APL 主要的发病机制为特征性染色体 15 号和 17 号染色体分别断裂并易位 t(15;17),在分子水平形成 PML-RAR $\alpha$  融合基因,其翻译产物 PML-RAR $\alpha$  融合蛋白阻滞白细胞正常分化及凋亡,导致骨髓中大量的异常早幼粒细胞堆积,导致 APL 的发生<sup>[19]</sup>。中医学认为 APL 的病因病机主要为正气亏虚,损伤骨髓,复感外邪,犯营入血。骨髓是 APL 的病变部位,温热邪毒由表入里或发为伏火,损伤骨髓,邪毒犯营入血,耗伤阴经气血,导致脾肾亏损,进而累及其他脏腑,最终形成骨髓恶性增殖病变。故 APL 的治疗着重祛热解毒扶正。众多医家<sup>[10,20-21]</sup>在治疗 APL 上的不断探索发现全反式维甲酸、三氧化二砷联合化疗结合青黛方剂治疗能够降低早期死亡率、获得更高疗效、减少化疗不良反应等优势。青黛味咸,性寒,归肝、肺、胃经,《本草经疏》谓其“解毒除热,固其所长”,可清热、凉血、解毒,在中医理论体系指导下治疗 APL 可谓方证相对,促使我们对青黛作用于 APL 的内在机制进行探究。

我们运用药物与疾病的药靶蛋白构建技术,来阐述青黛治疗 APL 的有效物质基础和治疗靶点。将复杂多样的中药成分,以及其活性成分在人体内不确定性的相互作用,转化为蛋白质为主体的系统

研究。蛋白质是生命活动的主要承担者,其功能的实现,如基因表达调控,细胞信号转导,细胞增殖、凋亡、分化等均取决于蛋白质之间的相互作用<sup>[22]</sup>。因此,PPI 网络的研究和分析能够可视化药物和疾病的组分、进程和功能。使用算法对研究的 PPI 网络进行拓扑分析,可以找到主导疾病生物行为的关键靶点,再与药物有效成分进行药靶蛋白分析,筛选出作用于疾病的最有效药物成分,为临床应用药物干预疾病提供理论基础。基于此,我们通过 TCMS、PubChem、SwissTargetPrediction 数据库筛选青黛有效成分,GEO 数据库获取 APL 疾病芯片后,构建了由 145 个节点(蛋白质)和 824 条边(相互作用)构成的 APL 的 PPI,继续进行拓扑分析得出 2 个核心基因 ELANE、CTSS,进一步与筛选出青黛的 9 种活性成分进行药靶蛋白构建,得出作用于 APL 最相关的青黛活性成分,即靛玉红、靛蓝。

靛玉红是中国经典名方当归龙荟丸的主要活性成分,用于治疗慢性粒细胞性白血病<sup>[23]</sup>。吴琦玮<sup>[24]</sup>通过体外试验发现,靛玉红对人早幼粒白血病 HL60 细胞株和人白血病 K562 细胞株均具有明显的抑制作用。更有文献表明靛玉红能够抑制人白血病幼粒细胞合成,靛玉红与 ELANE 基因的对接打分为 5.447 8,显示有较好的结合强度,而 ELANE 与中性粒细胞数量密切相关,其突变的患者有很高的风险发展成急性髓系白血病或骨髓异常增生<sup>[25]</sup>。Arun AK 通过对 52 名遗传性中性粒细胞

减少症患者进行研究,从患者外周血白细胞中提取基因组 DNA,测序进行突变分析发现 ELANE 出现不同的基因错义、移码或剪接位点变异,延缓中性粒细胞分裂成熟,而导致反复的细菌感染,导致骨髓疾病的发生。故靛玉红作用于 ELANE 进而干预骨髓内中性粒细胞的异常分化,对 APL 的治疗起到关键作用。

靛蓝是青黛的有效成分之一,具有抗炎镇痛作用。刘丽娟<sup>[26]</sup>研究靛蓝对构建体外 RAW264.7 炎症反应细胞模型进行实验发现,靛蓝通过下调 IL-6 的表达来减轻 RAW264.7 炎症反应细胞模型的炎症反应,得出靛蓝具有抗炎的作用。我们通过药靶蛋白分析显示,靛蓝与 CTSS 基因的对接打分是 6.008 7,显示有较强的结合度,而 CTSS 与炎症反应密切相关。CTSS 是一种与自身免疫性疾病密切相关的半胱氨酸蛋白酶,在人体的生理和病理过程中发挥着至关重要的调节功能。目前已有研究证实 CTSS 的生物学功能与炎症反应通路相关。更有研究表明,CTSS 通过促进细胞外基质降解,参与 VEGF 等生长因子分泌而促进肿瘤血管形成,从而促使血管内外肿瘤细胞的侵袭和转移<sup>[27]</sup>。而我们进行 KEGG 通路分析的结果也显示青黛活性成分的靶基因通过众多癌症途径包括 VEGF 信号通路参与 APL 的反应过程,为靛蓝起效于 APL 有力支持。

我们通过药理分析,得出青黛活性成分的靶基因在生物过程主要富集于细胞凋亡、细胞增殖、细胞迁移、细胞内信号传导、炎症反应等;在分子功能方面主要集中于 ATP、药物结合、血红素血清素结合等;在细胞组成方面主要体现在细胞质、细胞核、细胞连接等;在通路分析主要富集于癌症途径、急性髓系白血病、慢性粒细胞白血病、VEGF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路等。这些生理过程都与 APL 的发生发展密切相关。又通过进一步分析得出靛玉红和靛蓝与 APL 差异表达核心基因 ELANE,CTSS 有较好的结合强度。

本研究在临床应用青黛获取肯定疗效的前提下,将青黛作用于 APL 的内在分子机制通过药物与疾病的药靶蛋白模型分析,最终发现青黛的活性成分靛玉红和靛蓝可作用于 ELANE,CTSS 来干预 APL 的发生发展。从内在分子学和药理学角度为青黛干预 APL 提供了临床应用理论依据。此外我们构建可视化药物-疾病药靶蛋白模型,为探究中药潜在作用机制提供了新模式,也为中药作用于疾病的展现新见解。

## 参考文献

- [1] 赵佶,郑金生,汪惟刚,等. 圣济总录[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:158.
- [2] 佚名. 黄帝内经素问[M]. 北京:中国医药科技出版社,1996:307.
- [3] 朱橚,金瀛鳌. 普济方集要[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2007:231.
- [4] 陶晓明,冯翠,李虎生,等. 三氧化二砷、全反式维甲酸联合化疗治疗初发急性早幼粒细胞白血病的临床观察[J]. 肿瘤基础与临床,2013,26(1):18-21.
- [5] 胡晓梅,刘锋,麻柔,等. 周霭祥运用青黄散治疗白血病的经验[J]. 中医杂志,2011,52(14):1187-1189.
- [6] 尚志钧. 药性论-辑释本药性趋向分类论. 安徽:安徽科学技术出版社[M]. 2000:522-523.
- [7] 黄宫绣. 本草求真[M]. 北京:中国中医药出版社,1997:298.
- [8] 黄宫绣,刘理想,潘秋平. 本草求真演绎[M]. 北京:学苑出版社,2011:198.
- [9] 向阳,黄世林,郭爱霞,等. 复方青黛片为主治疗急性早幼粒细胞白血病 60 例[J]. 解放军医学杂志,1995,11(3):227-229.
- [10] 秦似龙,杨科. 复方青黛片治疗急性早幼粒细胞白血病疗效[J]. 临床血液学杂志,1999,12(1):23.
- [11] 黄世林,郭爱霞,向阳,等. 复方青黛片为主治疗急性早幼粒细胞白血病的临床研究[J]. 中华血液学杂志,1995,16(1):26-28,53-54.
- [12] 曾庆田,杜德极,谢定成,等. 靛玉红衍生物的抗肿瘤活性[J]. 中草药,1982,13(1):24-30.
- [13] Tanya Barrett, Stephen E. Wilhite, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets—update[J]. Nucleic Acids Research, 2013, D1(41):D991-D995.
- [14] 汝锦龙. 中药系统药理学数据库和分析平台的构建和应用[D]. 咸阳:西北农林科技大学,2015.
- [15] Jiao X, Sherman B T, Huang D W, et al. DAVID-WS: a stateful web service to facilitate gene/protein list analysis[J]. Bioinformatics, 2012, 28(13):1805-1806.
- [16] Szklarczyk Damian, Gable Annika L, Lyon David et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets[J]. Nucleic acids research, 2019, 47(D1):1101-1103.
- [17] Michael E. Smoot, Keiichiro Ono, Johannes Ruscchinski et al. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization[J]. Bioinformatics, 2011, 3(27):431-432.
- [18] 秘营昌,王建祥. 我国急性白血病的诊断治疗现状[J]. 国际输血及血液学杂志,2006,29(4):290-291.
- [19] 钟少东,蔡晓燕. 急性早幼粒细胞白血病发病机制及治疗进展[J]. 安徽医药,2011,15(3):277-280.
- [20] 杨俊超,李丽,王建英,等. 小剂量 HA 方案联合 ATRA、复方青黛片治疗急性早幼粒细胞白血病 30 例临床观察[J]. 现代中西医结合杂志,2004,18(19):2543-2544.
- [21] 孙锋,陈楠楠,成玉斌. 复方黄黛片治疗急性早幼粒细胞白血病 204 例经验总结[J]. 中西医结合学报,2008,6(6):639-642.

- tein-protein interaction networks, with increased coverage and integration[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: D808-815.
- [11] 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.
- [12] Wang J, Vasaikar S, Shi Z, et al. WebGestalt 2017: a more comprehensive, powerful, flexible and interactive gene set enrichment analysis toolkit[J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(W1): W130-137.
- [13] Mandeville KL, Krabshuis J, Ladep NG, et al. Gastroenterology in developing countries: issues and advances[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(23): 2839-2854.
- [14] Mladenova I, Durazzo M. Transmission of *Helicobacter pylori* [J]. *Minerva Gastroenterol Dietol*, 2018, 64(3): 251-254.
- [15] JKY H, Lai WY, Ng WK, et al. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(2): 420-429.
- [16] Weeks DL, Eskandari S, Scott DR, et al. A H<sup>+</sup>-gated urea channel: the link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization[J]. *Science*, 2000, 287(5452): 482-485.
- [17] Ramarao N, Gray-Owen SD, Meyer TF. *Helicobacter pylori* induces but survives the extracellular release of oxygen radicals from professional phagocytes using its catalase activity[J]. *Mol Microbiol*, 2000, 38(1): 103-113.
- [18] Censini S, Stein M, Covacci A. Cellular responses induced after contact with *Helicobacter pylori* [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2001, 4(1): 41-46.
- [19] Sjomina O, Pavlova J, Niv Y, et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection[J]. *Helicobacter*, 2018, 23(1): e12514.
- [20] Wroblewski LE, Peek RM. *Helicobacter pylori* in gastric carcinogenesis: mechanisms[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2013, 42(2): 285-298.
- [21] 崔晓春, 赵鸣芳, 凌云. 《伤寒论》五泻心汤煎煮法探析[J]. *中医基础医学杂志*, 2018, 24(1): 116-117, 136.
- [22] 袁嘉嘉, 顾超, 孙志广, 等. “炎—癌转化”的病因病机——以慢性萎缩性胃炎为例[J]. *长春中医药大学学报*, 2018, 34(4): 624-626.
- [23] De la Fuente M, Franchi L, Araya D, et al. *Escherichia coli* isolates from inflammatory bowel diseases patients survive in macrophages and activate NLRP3 inflammasome[J]. *Int J Med Microbiol*, 2014, 304(3-4): 384-392.
- [24] Trop-Steinberg S, Azar Y. Is Myc an Important Biomarker? Myc Expression in Immune Disorders and Cancer[J]. *Am J Med Sci*, 2018, 355(1): 67-75.
- [25] 雷楠, 熊思会, 谭溧, 等. 野黄芩苷通过 hedgehog 信号通路抑制结肠肿瘤干细胞分化的研究[J/OL]. *中国中药杂志*: 1-10. [2020-01-21]. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20200108.401>.
- [26] 张东梅, 卿晨. 血管内皮生长因子家族及其受体与肿瘤血管新生[J]. *医学综述*, 2017, 23(3): 417-420, 427.
- [27] Riedl S J, Shi Y. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2004, 5(11): 897-907.
- [28] Waldum HL, Fossmark R. Types of Gastric Carcinomas[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 4109.
- [29] Lahner E, Carabotti M, Annibale B. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in atrophic gastritis[J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(22): 2373-2380.

(2020-01-23 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 1698 页)

- [22] 刘存, 刘丽娟, 周超, 等. 基于“蛋白质相互作用网络-分子对接技术-体外实验”三维模式分析青黛对慢性粒细胞白血病的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(21): 206-211.
- [23] 籍秀娟, 张福荣. 靛玉红类化合物的抗肿瘤作用及构效关系的研究[J]. *药学报*, 1985, 20(2): 137-139.
- [24] 吴琦玮, 葛忠良, 高月, 等. 靛玉红对肿瘤细胞抑制作用的研究及相关机制探讨[J]. *天津中医药*, 2008, 25(1): 55-58.
- [25] Arun A K, Senthamizhselvi A, Hemamalini S, et al. Spectrum of ELANE mutations in congenital neutropenia: a single-centre study in patients of Indian origin[J]. *Journal of clinical pathology*, 2018, 71(12): 1046-1050.
- [26] 刘丽娟, 王允亮, 李军祥. 靛蓝对溃疡性结肠炎体外炎性反应模型的作用[J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5): 1666-1669.
- [27] 张智, 郭鹏, 肖艺, 等. 组织蛋白酶 S 与恶性肿瘤[J]. *中国癌症防治杂志*, 2017, 9(1): 75-79.

(2020-03-02 收稿 责任编辑: 王明)