

基于网络药理学及分子对接技术分析艾迪注射液治疗鼻咽癌的作用机制

乔一芸, 红梅, 魏媛媛, 耿海静, 汪姣, 王海生*

(内蒙古医科大学 基础医学院, 内蒙古 呼和浩特 010059)

【摘要】目的 利用网络药理学和分子对接技术对艾迪注射液治疗鼻咽癌的作用机制进行初步探讨。方法 从TCMSP及TCM Database@Taiwan数据库中收集和分析艾迪注射液的有效活性成分,在TCMSP和Swiss Target Prediction网站预测作用靶点,在GeneCards、DisGeNET、OMIM和TTD数据库中检索鼻咽癌的相关靶点。绘制艾迪注射液治疗鼻咽癌的活性成分—靶点网络图,运用拓扑学方法筛选其核心化学成分。将二者交集靶点在STRING数据库和Metascape数据库分别进行蛋白质互作分析、GO富集及KEGG富集分析。最后运用Auto Dock软件对核心活性成分和关键靶点进行分子对接验证。结果 经筛选整理得到艾迪注射液有63种活性成分和对应的852个靶点,鼻咽癌有1989个潜在靶点,其中二者共同靶点有308个。应用GO数据库功能富集分析得到310个GO条目,应用KEGG数据库富集筛选得到198条有关通路,其中包含PI3K/AKT信号通路、HIF-1 α 信号通路、TNF信号通路等已报道与鼻咽癌相关的通路。分子对接结果显示,艾迪注射液的核心化学成分(quercetin, kaempferol, isorhamnetin, 7-O-methylisomucronulatol及Jaranol)对SRC、STAT3、MAPK1、PIK3R1及RELA蛋白具有良好的亲和力。结论 对艾迪注射液治疗鼻咽癌的作用机制进行了初步探索,并对其药效物质基础进行了预测,为进一步明确艾迪注射液治疗鼻咽癌的有效成分和作用机制提供依据。

【关键词】网络药理学;艾迪注射液;鼻咽癌;分子对接

中图分类号: R475

文献标识码: B

文章编号: 2095-512X(2022)03-0251-05

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)是一种位于鼻咽腔黏膜上皮的恶性肿瘤。2018年鼻咽癌新发病例约12.9万例,仅占2018年诊断出的所有癌症的0.7%。然而,其全球地理分布极不平衡,超过70%的新病例发生在东亚和东南亚^[1]。因其对电离辐射的高度敏感性和深部解剖位置,故单一放射或联合放化疗是鼻咽癌早期和局部晚期的主要治疗方式。但放疗通常会产生急性不良反应,如黏膜炎、持续性口干症和吞咽困难等,严重影响患者生活质量。此外,化疗药物容易产生耐药性,限制了化疗药物的应用。且大约三分之一的患者存在局部复发和远处转移,因此,寻找新的治疗方法对治疗鼻咽癌极为关键^[2]。

艾迪注射液由4味中药材组成:斑蝥、黄芪、人参及刺五加,具有攻邪抑瘤、提高机体免疫力的功效,是我国抗肿瘤常用的中药注射液。有报道称艾

迪注射液改善鼻咽癌患者癌症相关性疲劳的临床疗效显著,可以显著提高患者生活质量,并已写入《中成药治疗癌因性疲乏临床应用指南》^[3]。然而,艾迪注射液治疗鼻咽癌的具体机制还不明确,有待进一步研究。因而,本研究利用网络药理学和分子对接技术,探讨艾迪注射液的有效成分和作用靶点,揭示艾迪注射液治疗鼻咽癌的可能分子机制。

1 资料与方法

1.1 艾迪注射液有效化学成分收集与筛选

本研究从中药系统药理学分析平台(traditional chinese medicine systems pharmacology, TCMSP)和TCM database@Taiwan中收集斑蝥、黄芪、人参、刺五加的化学成分,并以ADME参数中口服利用度(oral bioavailability, OB) \geq 30%且类药性(drug-like-

收稿日期: 2022-02-05; 修回日期: 2022-04-25

基金项目: 内蒙古自治区科技创新引导项目(KCBJ2018021); 内蒙古自治区自然科学基金项目(2020MS08132); 2020年第十批草原英才团队项目; 内蒙古医科大学青年基金项目(YKD2018QNCX012)

第一作者: 乔一芸(1995-), 女, 2019级在读硕士研究生。E-mail: 769339379@qq.com

*通信作者: 王海生, 男, 博士, 教授。研究方向: 肿瘤信号转导; 抗肿瘤蒙药的筛选及其分子机制的研究。

E-mail: xywhs001@126.com

ness, DL) ≥ 0.18 为指标进行筛选, 获得艾迪注射液有效化学成分。同时, 在 Pubmed 和 CNKI 数据库中检索相关文献, 以补充上述网站未预测到但具有生物活性和药理作用的化学成分。

1.2 化学成分相关靶点的预测与筛选

在 TCMSP 寻找艾迪注射液有效活性成分的作用靶点, 再通过 Swiss Target Prediction 网站予以补充。使用 UniProt 数据库校正靶点基因名称, 蛋白质种类设置为“Homo sapiens”, 整理去重。

1.3 鼻咽癌相关基因收集

从 Genecards 数据库、TTD 数据库 (therapeutic target database, TTD)、OMIM 数据库及 DisGeNET 基因-疾病关联数据库中以“nasopharyngeal carcinoma”为关键词检索鼻咽癌相关靶点。将 4 个数据库筛选的靶点信息合并归纳, 得到鼻咽癌相关的靶点, 利用 UniProt 数据库使靶点名称规范化。

1.4 艾迪注射液治疗鼻咽癌的“活性成分-作用靶点”网络模型构建

运用 Venn 在线作图软件将艾迪注射液活性成分对应靶点与鼻咽癌靶点取交集并制作韦恩图, 然后对应交集靶点基因在艾迪注射液对应的化合物, 并使用 Cytoscape 3.8.2 软件建立艾迪注射液治疗鼻咽癌的“活性成分-作用靶点”网络模型。

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用网络的构建与分析

为明确艾迪注射液相关靶点与鼻咽癌疾病靶点的相互作用, 将上述两者交集靶点上传至 STRING 平台构建 PPI 网络模型, 限定种属为“人源”, 最小互相作用阈值 > 0.9 , 得到 PPI 网络。并将结果导入 Cytoscape 3.8.2 软件进行可视化, 利用 cytoNCA 插件对网络进行拓扑分析。

1.6 靶点功能与通路富集分析

将艾迪注射液抗鼻咽癌的潜在靶点导入 Metascape 平台, 进行 GO 富集分析和 KEGG 通路注释分析。

1.7 分子对接

选择 PPI 网络图中度值排名前 5 位的靶点作为关键靶点, 和艾迪注射液成分——鼻咽癌靶点网络图中度值排名前 5 位的化学成分进行分子对接。利用 PDB 蛋白质数据库和 Pubchem 数据库分别获得蛋白质的结构文件和化合物的 3D 结构, 之后使用 Pymol 软件去除配体残基和水分子, 再导入 Auto Dock 软件中加氢。利用 AutoDock 软件进行分子对接时使用半柔性对接的方法, 运行次数为 50, 使用算法为 Local Search Parameters, 得到的结果使用 Pymol

软件进行优化和绘图。

2 结果

2.1 艾迪注射液的活性成分及靶点筛选

经数据库检索后, 符合筛选条件的有效成分有 46 个, 另从相关文献收集艾迪注射液活性成分 17 个^[4-6]。共有 63 种活性成分, 其中 kaempferol 为黄芪和人参共有活性成分。在 Swiss Target Prediction 和 TCMSP 数据库中检索艾迪注射液活性成分对应的靶点, 整理去重后得到 852 个靶点。

2.2 鼻咽癌相关靶点的获取

从 Genecards 数据库中检索获得鼻咽癌靶点 2064 个, 为保障数据准确性, 设定 Score 得分大于中位数的靶点为鼻咽癌潜在的靶点。通过计算 $Score > 3.93$ 的靶点即为鼻咽癌的潜在靶点。结合 DisGeNET、OMIM 和 TTD 数据库的检索结果, 去重整理后共得到 1989 个鼻咽癌相关靶点。

2.3 艾迪注射液治疗鼻咽癌的“活性成分-作用靶点”网络图绘制

运用 Venn 分析软件将艾迪注射液活性成分靶点与鼻咽癌疾病靶点取交集, 得到艾迪注射液活性成分——鼻咽癌共同靶点 308 个。运用 Cytoscape 3.8.2 软件建立艾迪注射液治疗鼻咽癌的“活性成分-对应靶点”的网络 (见图 1)。因 4 个化合物在上述数据库中无作用靶点, 故该网络图中有 372 个节点 (包括 4 种药材, 60 种活性成分和 308 个靶点) 和 3188 个边。图 1 中方形节点代表药材, 菱形节点代表化合物, 圆形节点代表靶点; 边代表活性成分与靶点间的相互作用。利用 Analyze Network 插件对该网络进行拓扑分析, 度值表示和节点相连的边的条数, 度值的大小由节点的大小表示, 其度值越大说明该节点在网络中起的作用越大。在化合物方面度值从大到小逐个为 HQ18 (quercetin) (degree=146)、A (kaempferol) (degree=86)、HQ5 (isorhamnetin) (degree=69)、HQ7 (7-O-methylisomucronulatol) (degree=68)、HQ2 (Jaranol) (degree=59) 等。这些化合物具有较多的作用靶点, 可能在艾迪注射液治疗鼻咽癌中发挥重要的药理作用。靶基因度值排名前 4 位的是 PTGS2 (degree=33)、HSP90AA1 (degree=32)、CYP19A1 (degree=20) 及 CDK2 (degree=20)。由此可知, 艾迪注射液的一种活性成分可有多靶点, 一个靶点可有多种活性成分对应, 这说明艾迪注射液具有多成分、多靶点协同调节的特点。

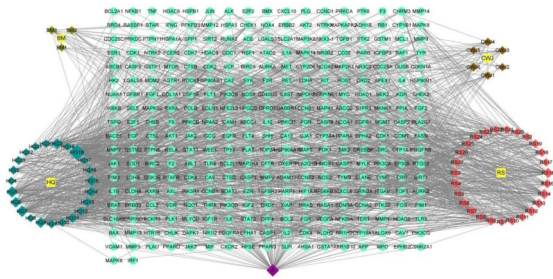


图1 艾迪注射液治疗鼻咽癌“药物-成分-靶点-疾病”网络图

2.4 艾迪注射液-鼻咽癌靶点 PPI 网络构建

将交集靶点输入到STRING平台后,进一步通过插件 cytoNCA 对网络进行拓扑分析,计算得到 DC、BC、EC、CC 的中位数分别为 11、100.47、0.025、0.21。运用网络药理学筛选方法,DC > 2 倍中位数且其他指标均大于其中位数筛选网络,得到 59 个关键节点。将筛选的 59 个关键节点重新输入 STRING 数据库中, Cytoscape 软件其进行可视化(见图 2)。其中节点代表靶点对应的蛋白质,边代表蛋白质的相互作用。节点的大小和颜色的深浅表示 degree 值的大小,节点越大、颜色越深表示对应 degree 值越大。边的粗细表示 Combine score 值的大小,边越粗对应 Combine score 值越大。其 degree 值最高的靶点 SRC (degree=41)、STAT3 (degree=36)、MAPK1 (degree=36)、PIK3R1(degree=32)及 RELA(degree=31)可能为艾迪注射液治疗鼻咽癌的核心靶点。BM3 (cantharidin)是艾迪注射液的重要化合物,其靶点 CASP3、TP53、PRKCA、PRKCD 在蛋白相互作用中也发挥了重要作用。

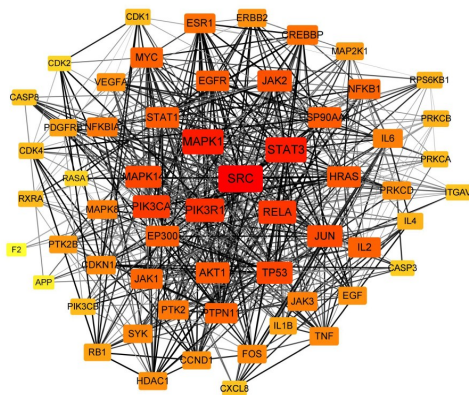


图2 艾迪注射液与鼻咽癌靶点关键蛋白的互作网络

2.5 GO 功能富集

应用 Metascape 平台对艾迪注射液治疗鼻咽癌的 308 个相关靶点进行 GO 富集分析,结果显示 $P < 0.05$ 的 GO 条目总计 3339 个,其中包含生物过程 (biological process, BP) 条目 2837 个, 细胞组成 (cell

composition, CC) 条目 192 个, 分子功能 (molecular function, MF) 条目 310 个, 各类别前 10 的通路借助 Omicshare 平台可视化(见图 3)。在生物过程条目方面主要涉及细胞移动、对损伤的反应及凋亡, 分子功能条目方面主要涉及蛋白激酶活性、丝氨酸苏氨酸激酶活性及跨膜受体蛋白激酶活性, 细胞组成条目方面主要涉及膜微区和受体复合物。

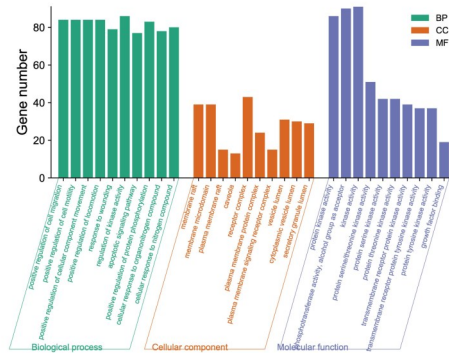


图3 GO 富集分析

2.6 KEGG 通路富集

将艾迪注射液治疗鼻咽癌的相关靶点导入 Metascape 网站进行 KEGG 通路富集分析,结果显示 $P < 0.05$ 的条目总计 198 个, 选出最显著的 20 条通路通过 Omicshare 平台对通路数据进行可视化(见图 4)。结果表明,艾迪注射液治疗鼻咽癌主要通过以下途径:癌症通路;信号通路途径 (PI3K/AKT 信号通路、HIF-1 信号通路及 TNF 信号通路);病毒感染相关疾病 (乙型肝炎、EB 病毒感染及丙型肝炎);癌症相关物质 (蛋白多糖);癌症 (前列腺癌、胰腺癌及慢性粒细胞白血病)。

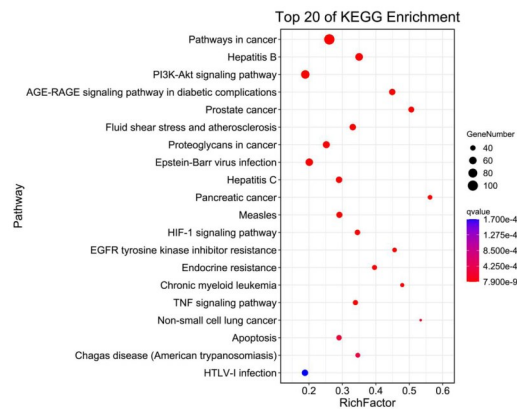


图4 KEGG 富集分析

2.7 分子对接

在 PDB 数据库得到蛋白 ID 编号为 5 k4i (MAPK1)、2 iug (PIK3R1)、1 nfi (RELA)、2 h8h (SRC) 及 6 qhd (STAT3), 对接结果见表 1。Docking

Score 值 > 4.25 表示活性成分与靶点间存在结合能力, > 5.00 表示结合活性较佳。结果显示 5 个靶点蛋白和 5 个关键成分的 Docking Score 均 < -5.00, 即大部分靶点与成分的结合活性较好。

表 1 艾迪注射液主要活性成分与关键靶点结合预测

活性成分	Total Score				
	SRC	STAT3	MAPK1	PIK3R1	RELA
quercetin	-6.81	-5.57	-6.36	-6.17	-5.42
kaempferol	-7.23	-5.7	-6.34	-6.76	-6.35
isorhamnetin	-6.93	-5.08	-5.80	-6.37	-5.68
7-O-methylisomucronulatol	-7.14	-5.44	-6.42	-6.27	-6.44
Jaranol	-6.89	-5.00	-6.01	-6.41	-5.38

3 讨论

网络药理学是结合药学、医学、计算机学和生物信息学相关的一门新兴学科。通过网络药理学我们可以直接从大量数据中识别药物和疾病靶点。其为疾病的治疗提供了新的策略和方法。

本研究运用网络药理学方法研究艾迪注射液治疗鼻咽癌的作用机制,通过筛选并预测我们得到艾迪注射液中有 852 个活性成分靶点和 1989 个治疗靶点,艾迪注射液活性成分——鼻咽癌共同靶点 308 个。通过分析“艾迪注射液活性成分——鼻咽癌作用靶点”的网络图,quercetin(槲皮素)、kaempferol(山奈酚)、isorhamnetin(异鼠李素)、7-O-methylisomucronulatol 及 jaranol(华良姜素)等化学成分具有较高的治疗活性。槲皮素是一种黄酮类化合物。据报道槲皮素可诱导鼻咽癌 CNE2 细胞发生 Caspase 非依赖性细胞凋亡,通过 NF- κ B 通路来抑制鼻咽癌的血管生成^[7]。流行病学研究表明,大量摄入山奈酚可使不同类型癌症的发病率降低。山奈酚的内质网应激可降低癌细胞的活性、抑制增殖和刺激自噬,发挥抗肿瘤和细胞保护的作用。山奈酚可诱导 G2/M 期阻滞,还有抑制 CNE-2 细胞凋亡和增殖的功能^[8]。异鼠李素具有广泛的抗肿瘤活性,在体外试验中异鼠李素可明显抑制鼻咽癌细胞的生长和增殖^[9]。7-O-methylisomucronulatol 和华良姜素对鼻咽癌的作用机制尚不明确,有待进一步实验研究。

将艾迪注射液活性成分——鼻咽癌 308 个共同靶点导入 STRING 平台中,通过构建 PPI 网络和运用拓扑分析筛选出 5 个关键蛋白 SRC、STAT3、MAPK1、PIK3R1 及 RELA。原癌基因 SRC 目前被视

为有前途的多种癌症药物靶点,通过激活 PI3K/AKT 通路和细胞骨架重构,诱导上皮间充质转化,来促进鼻咽癌细胞转移^[10]。STAT3 与 EBV 感染密切相关,且 STAT3 现已成为鼻咽癌的治疗靶点,有研究表明 STAT3 可以增强鼻咽癌细胞的迁移和侵袭能力^[11,12]。MAPK1 又称作细胞外信号调节激酶 2(extracellular signal-regulated kinase 2, ERK2),在 ERK/MAPK 信号通路中起关键作用。ERK/MAPK 信号通路的激活可以通过上调 MMP 的表达增加肿瘤的侵袭和转移;也可通过激活转录因子增强 VEGF 的转录,促进血管的形成。PIK3R1 基因编码 PI3K 的调节亚基 p85 α ,许多蛋白与之结合进而影响肿瘤细胞生物学行为。RELA (P65)是 NF- κ B/Rel 家族的一员,p65 沉默抑制 CNE2 细胞增殖并影响细胞周期和成瘤能力^[13]。综上所述,这些靶点主要和鼻咽癌细胞增殖、侵袭、转移、细胞周期和凋亡有关。

接下来,我们对艾迪注射液治疗鼻咽癌的 308 个相关靶点进行了 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集发现艾迪注射液在生物过程方面主要涉及细胞移动、对损伤细胞的反应及凋亡。分子功能条目方面涉及蛋白激酶活性、丝氨酸苏氨酸激酶活性及跨膜受体蛋白激酶活性。细胞组分条目主要涉及膜微区及受体复合物。KEGG 通路富集结果表明,候选靶点在 PI3K-AKT 信号通路、乙型肝炎感染和 EB 病毒感染等通路上显著富集。这表明艾迪注射液具有多种活性成分,且通过多种途径来治疗鼻咽癌。EB 病毒感染是促进鼻咽癌癌变的因素之一,EB 病毒编码的 LMP1 和 LMP2A 蛋白可引起鼻咽癌细胞内信号通路失调^[14]。PI3K/AKT 信号通路是癌症中最常见的活化信号转导通路之一,调节细胞的存活、生长、分化、代谢和细胞骨架重组等,BYL-719 (PI3K 抑制剂)可诱导鼻咽癌细胞周期阻滞和诱导凋亡^[15,16]。乙型肝炎病毒感染是早期鼻咽癌的独立危险因素^[17]。肿瘤坏死因子 TNF 与其受体结合可导致 NF- κ B 转录因子激活,进而影响细胞生长和凋亡、肿瘤发生以及免疫、炎症和应激反应。NF- κ B 信号通路失调可能是导致鼻咽癌 EB 病毒潜伏感染的原因之一。综上所述,艾迪注射液可能通过调控多个复杂的生物过程来预防和治疗鼻咽癌。

本研究通过网络药理学探讨艾迪注射液对鼻咽癌潜在作用机制,艾迪注射液通过调节 SRC、STAT3、MAPK1、PIK3R1 及 RELA 核心靶点,PI3K/AKT 信号通路、HIF-1 α 信号通路、TNF 信号和 EB 病毒感染等核心通路治疗鼻咽癌。然而,目前大多数

中药成分数据库提供的化学成分信息多为体外分离提取的成分,不是血中移行成分,在实际应用中会产生偏差,下一步应在体内和体外进行实验辅佐以佐证。本研究的结果为后续的理论研究和临床研究提供了新的信息。

参考文献

- [1]Sun XS, Li XY, Chen QY, et al. Future of radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma[J]. Br J Radiol, 2019, 92(1102): e20190209
- [2]Guan S, Wei J, Huang L, et al. Chemotherapy and chemoresistance in nasopharyngeal carcinoma[J]. Eur J Med Chem, 2020, 20(7): e112758
- [3]Song YC, Hung KF, Liang KL, et al. Adjunctive chinese herbal medicine therapy for nasopharyngeal carcinoma: clinical evidence and experimental validation[J]. Head Neck, 2019, 41(9): 2860–2872
- [4]Lan HY, An P, Liu QP, et al. Aidi injection induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells through the mitochondrial pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 27(4): e114073
- [5]Li C, Cui Y, Ren J, et al. Novel cells-based electrochemical sensor for investigating the interactions of cancer cells with molecules and screening multitarget anticancer drugs[J]. Anal Chem, 2021, 93(3): 1480–1488
- [6]Wu R, Li C, Li C, et al. Rapid screening of multi-target anti-tumor drugs by nonimmobilized tumor cells/tissues capillary electrophoresis[J]. Anal Chim Acta, 2019, 104(5): 152–161
- [7]Huang DY, Dai ZR, Li WM, et al. Inhibition of EGF expression and NF- κ B activity by treatment with quercetin leads to suppression of angiogenesis in nasopharyngeal carcinoma[J]. Saudi J Biol Sci, 2018, 25(4): 826–831

- [8]Imran M, Salehi B, Sharifi RJ, et al. Kaempferol: a key emphasis to its anticancer potential[J]. Molecules, 2019, 24(12): 2277–2278
- [9]王科, 黄媛恒, 梁春梅, 等. 异鼠李素对人鼻咽癌 CNE-1 细胞增殖的影响[J]. 大众科技, 2017, 19(7): 112–114
- [10]Ke L, Xiang Y, Guo X, et al. c-Src activation promotes nasopharyngeal carcinoma metastasis by inducing the epithelial-mesenchymal transition via PI3K/Akt signaling pathway: a new and promising target for NPC[J]. Oncotarget, 2016, 7(19): 28340–28355
- [11]Lo AK, Dawson CW, Lung HL, et al. The role of EBV-encoded LMP1 in the NPC tumor microenvironment: from function to therapy[J]. Front Oncol, 2021, 11(6): e640207
- [12]Lin CH, Chiang MC, Chen YJ. STAT3 mediates resistance to anoikis and promotes invasiveness of nasopharyngeal cancer cells[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(5): 1549–1556
- [13]吴美华. 肿瘤微环境与鼻咽癌的研究进展[J]. 中国医学创新, 2020, 17(26): 164–168
- [14]Richardo T, Prattapong P, Ngernsombat C, et al. Epstein-barr virus mediated signaling in nasopharyngeal carcinoma carcinogenesis[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(9): 2441–2443
- [15]Noorolyai S, Shajari N, Baghbani E, et al. The relation between PI3K/AKT signalling pathway and cancer[J]. Gene, 2019, 69(8): 120–128
- [16]Marquard FE, Jcker M. PI3K/AKT/mTOR signaling as a molecular target in head and neck cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2020, 17(2): e113729
- [17]Weng JJ, Wei JZ, Li M, et al. Effects of hepatitis B virus infection and antiviral therapy on the clinical prognosis of nasopharyngeal carcinoma[J]. Cancer Med, 2020, 9(2): 541–551

(上接第 250 页)

4 小结

通过中医传承计算平台(V3.0)系统总结了张聿青先生治疗吐血的用药规律,其关于吐血的治疗思想深受缪希雍治吐血三原则影响,即“宜行血,不宜止血;宜补肝,不宜伐肝;宜降气,不宜降火”。同时张聿青也有自己治疗吐血的独到见解,如他重视清补脾胃,防止脾胃受损而气机失调,导致胃气不降而气火上逆;对于吐血日久,肺肝肾之阴大伤的病人,他善用膏方来缓缓图之;针对吐血的病因,他强调治病求本,先辨外感内伤,先祛外邪再治内伤。可以发现,张聿青治病心思缜密周全,用药准确精妙,这些治疗吐血的思想对于临床有很好的指导意义。

参考文献

- [1]唐仕欢,申丹,卢朋,等. 中医传承辅助平台应用评述[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(2): 329–331

- [2]董蓉蓉. 高血压病证治规律及名老中医经验的挖掘研究[D]. 北京:中国中医科学院, 2018
- [3]国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2020
- [4]刘凡. 李佩文教授肺癌辨治思想及组方规律研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2017
- [5]张峻玮,李朝辉,陈玲玲,等. 基于数据挖掘的中医药治疗原发性骨质疏松症用药规律分析[D]. 济南:山东中医药大学, 2018
- [6]周仲琪. 中医内科学[D]. 北京:中国中医药出版社, 2007
- [7]杨丽. 基于古代文献脾主运化、统血理论的发展源流及从脾论治相关疾病的[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2018
- [8]钟麟生. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2019
- [9]徐左北. 缪氏吐血三要法刍议[J]. 中国中医急症, 2005, 22(3): 11–15
- [10]王雪可,崔应麟,马瑞红. 基于数据挖掘《临证指南医案》治疗吐血方剂组方用药规律[J]. 新中医, 2020, 52(23): 17–20