

基于网络药理学研究益肾消癥方治疗多囊卵巢综合征的作用机制

丁 昉¹, 黄莉婷¹, 何 佳¹, 林寒梅^{2*}

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530020; 2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023)

摘要: **目的** 基于网络药理学及验证实验研究益肾消癥方治疗多囊卵巢综合征的作用机制。**方法** 利用 ETCM 数据库筛选出益肾消癥方有效成分, 通过 GeneCards 数据库筛选出多囊卵巢综合征相关靶点, 通过 String 数据库构建交互靶点蛋白互作网络信息, 并使用 DAVID 数据库进行基因功能富集分析, 采用 AutoDock Vina 软件进行分子对接分析。通过 HE 染色观察大鼠动情周期和卵巢变化, 验证益肾消癥方对多囊卵巢综合征大鼠治疗作用。**结果** 益肾消癥方与多囊卵巢综合征的共同靶点共 252 个; 主要涉及雌激素信号通路、神经活性配体-受体相互作用等疾病; 益肾消癥方主要潜在活性化合物乔松素通过调节 INS、ALB、Akt1 等潜在靶点发挥药理作用。体内实验验证, 益肾消癥方可恢复多囊卵巢综合征大鼠动情周期, 减小卵巢体积, 减轻卵巢质量, 减少卵巢囊泡, 增加黄体数量, 改善卵巢窦状卵泡卵母细胞多囊样改变。**结论** 益肾消癥方可能通过调控激素合成、突触、胰岛素抵抗等发挥治疗多囊卵巢综合征的作用。

关键词: 益肾消癥方; 多囊卵巢综合征; 形态结构; 网络药理学

中图分类号: R966

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-2000-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.050

多囊卵巢综合征是一种多基因、多因素、全身性、炎症性的自身免疫性疾病^[1-2], 一般由雄激素过多和卵巢功能障碍的体征和症状组合定义, 其发病机制尚未完全明确^[3]。青春期多囊卵巢综合征具有高发性, 其临床症状包括闭经或少经、多毛症、不育症、情绪障碍等^[4], 此外对非酒精性脂肪肝、2 型糖尿病、冠状动脉硬化等心血管疾病及子宫内膜癌、卵巢癌等妇科恶性肿瘤的长期风险也不容忽视^[5-9]。本课题组在临床使用益肾消癥方发现, 其对青春期多囊卵巢综合征患者的疗效优于二甲双胍及达英-35 对照组, 且不良反应减少^[10]。网络药理学是基于系统生物学、生物信息学及经典药理学等多学科理论对药物干预疾病的靶点及可能机制进行系统归纳分析的新学科^[11-12]。本文通过网络药理学方法, 构建“药物-成分-疾病-靶点”的交互网络, 联合大鼠多囊卵巢综合征模型, 对益肾消癥方治疗多囊卵巢综合征的作用靶点及机制进行探究。

1 材料

1.1 网络药理学数据库 中医药百科全书数据库 (ETCM, <http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/>); 人类基因数据库 (GeneCards, <https://www.genecards.org/>); Venny 2.1.0 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny>); String 数据库 (<https://string-db.org/>); DAVID 数据库 (<http://www.david.niaid.nih.gov>); RCSB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org>); PubChem 数据库

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

1.2 试剂与药物 益肾消癥方由党参 20 g、仙灵脾 12 g、杜仲 15 g、菟丝子 15 g、女贞子 10 g、三棱 12 g、莪术 10 g、赤芍 9 g、胆南星 10 g、半夏 15 g、夏枯草 12 g、当归 15 g、川芎 10 g、皂角刺 12 g、紫石英 15 g 等组成, 中药材均购自广西省南宁市老百姓大药房, 经广西中医药大学黄莉婷老师鉴定为正品。益肾消癥方由广西中医学院中药药剂研究实验室制备, 每 1 剂 (约 192 g) 浸泡 2 h 后加入 2 L 水煎煮 2 h, 取煎煮液。同法煎煮 6 次, 合并所有煎煮液, 于 60 ℃ 水浴浓缩至 4 g/mL, 消毒灭菌, 4 ℃ 保存, 备用。丙酸睾酮注射液 (批号 050601)、0.9% 氯化钠注射液 (批号 07011103) 均购自广州白云山明兴制药有限公司; 注射用人绒毛膜促性腺激素 (HCG, 批号 0605021), 购自上海上药第一生化药业有限公司; 枸橼酸氯米芬胶囊 (CC, 批号 060801), 购自上海衡山药业有限公司。

1.3 仪器 OHAUS 1/1000 型电子天平 [奥豪斯仪器 (上海) 有限公司]; BCD-143KA1 型电冰箱 (TCL 科技集团股份有限公司); PM-10AD 型照相机显微镜 (日本 Olympus 公司); Leica MP60 型显微照相系统、RM2125 型 LEICA 切片 (德国 Leica 公司)。

1.4 动物 SPF 级雌性 SD 大鼠 40 只, 体质量 30~35 g, 23 日龄, 由广西医科大学动物实验中心提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (桂) 2003-0003。饲养条件为室温

收稿日期: 2021-04-22

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (82160919); 林寒梅广西名中医工作室建设项目 (2021022-001-07)

作者简介: 丁 昉 (1976—), 女, 硕士, 副教授, 主治医师, 研究方向为不孕症。Tel: 15878759316, E-mail: 552463809@qq.com

* 通信作者: 林寒梅 (1963—), 女, 主任医师, 教授, 博士生导师, 研究方向为不孕症、生殖内分泌。Tel: 13978663363, E-mail: linhm0806@163.com

(25±2)℃, 相对湿度 40%~70%, 12 h/12 h 明暗交替, 自由饮水进食。

2 方法

2.1 益肾消癥方有效成分收集及初筛 利用 ETCM 数据库收集益肾消癥方中各药味的主要化学成分, 并用 ETCM 数据库中的 MedChem Studio 程序预测查询该化学成分的潜在靶点, 保留可靠性分值大于 0.8 的靶点。

2.2 疾病靶点预测及交互靶点 以 polycystic ovary syndrome 作为检索词纳入 GeneCards 数据库中, 高级检索获得多囊卵巢综合征相关靶点。通过网络药理学蛋白交集 Venny 2.1.0 在线工具取交集获得“益肾消癥方”和“多囊卵巢综合征”交集的“中药-疾病”交互靶点, 并绘制韦恩图。

2.3 蛋白互作 (PPI) 网络构建 将所得到的交互靶点导入, 通过 String 数据库, 限定物种为 *Homo sapiens*, 设定最低要求互动分数为“medium confidence”(>0.4), 其余设置均为默认设置, 得到 PPI 网络相关信息。

2.4 GO 和 KEGG 富集分析 将交集靶点导入 DAVID 数据库中, 进行基因功能富集分析, 分别从细胞组成、分子功能、生物过程方面提供基因功能的详细注释。设定阈值 $P < 0.05$ 进行筛选, 对相互作用的靶点进行 GO 富集分析, 按照 P 值升序选取前 10 位 KEGG 通路, 绘制“靶点-通路”弦图。并用 R 软件对上述结果进行可视化分析。

2.5 分子对接 从 RCSB PDB 数据库下载靶标蛋白, 并使用 PyMol 软件删除水分子和原配体; 有效化合物从 PubChem 下载 2D 结构, 用 ChemBio3D 能量最小化转化为三维结构, 保存为 mol2 格式。以蛋白作为受体, 以小分子作为配体, 根据靶蛋白复合物中配体的坐标确定分子对接的活性位点, 采用 AutoDock Vina 进行分子对接, 参数 exhaustiveness 设置为 24, 其他参数均采用默认值。最后选取打分值最高的构象用 Discovery Studio 进行结果分析, 用 PyMol 进行相关作图。

2.6 多囊卵巢综合征大鼠造模及给药 参考文献 [13] 报道, 雌性 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、枸橼酸氯米芬组、益肾消癥方组, 每组 10 只, 除正常组外, 其余各组建立多囊卵巢综合征大鼠模型, 造模方法为颈背部皮下注射丙酸睾酮 1.25 mg/只, 隔天 1 次, 同时给予 HCG 1.5 U/只, 每天 2 次皮下注射, 连续 20 d。正常组皮下注射生理盐水 0.15 mL/只, 每天 2 次, 共 20 d。造模成功后, 各组大鼠每天灌胃给予相应药物 (益肾消癥方组 2 g/100 g, 枸橼酸氯米芬组 0.5 mg/100 g), 共 4 周; 正常组和模型组大鼠灌胃给予蒸馏水 0.5 mL/100 g。

2.7 检测指标

2.7.1 阴道细胞学检查观察动情周期 无菌棉签于生理盐水中浸湿后放入大鼠阴道侧壁上 1/3, 顺时针涂抹后沿同一方向涂抹于载玻片上, 95% 乙醇中固定 15 min, 自然风干后采用 HE 染色。大鼠动情周期以阴道内细胞变化来鉴别, 动情前期以小、圆、有核鳞状上皮细胞存在为特征,

持续时间 12 h; 动情期以角质化鳞状上皮细胞为特征, 持续时间 9~15 h; 动情后期, 以白细胞和角质化细胞为特征, 持续时间 14~18 h; 动情间期, 白细胞和圆上皮细胞出现为特征, 持续时间 60~70 h。

2.7.2 双侧卵巢检测 大鼠腹腔麻醉后摘取双侧卵巢称取湿质量, 观察各组大鼠卵巢外观、色泽、包膜及包膜下是否有囊状扩张的卵泡等情况, 检测双侧卵巢的体积和质量, 用 10% 甲醛固定液固定后行 HE 染色。

2.8 统计学分析 通过 SPSS11.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用 One-way ANOVA 分析, 组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 益肾消癥方有效化学成分筛选 通过 ETCM 数据库检索得到益肾消癥方中包含 559 个化合物, 这些化合物中可靠性大于 0.8 的靶点共计 797 个。各药味的化合物和靶点个数见表 1。

表 1 益肾消癥方包含的化合物和对应的潜在靶标个数

药物名称	化合物个数/个	靶点个数/个
党参	64	377
仙灵脾	27	170
杜仲	52	209
菟丝子	8	81
女贞子	21	133
三棱	6	164
莪术	141	151
赤芍	20	105
胆南星	2	57
半夏	40	330
夏枯草	39	175
当归	65	266
川芎	72	264
皂角刺	57	183

2.2 多囊卵巢综合征靶点预测及“益肾消癥方-多囊卵巢综合征”交互靶点筛选 通过 GeneCards 数据库数据, 以 polycystic ovary syndrome 作为检索词收集得到“多囊卵巢综合征”靶点共计 2 575 个。通过网络药理学蛋白交集 Venny 2.1.0 在线工具获得“益肾消癥方”和“多囊卵巢综合征”交集的“中药-疾病”交互靶点共 252 个, 韦恩图见图 1。

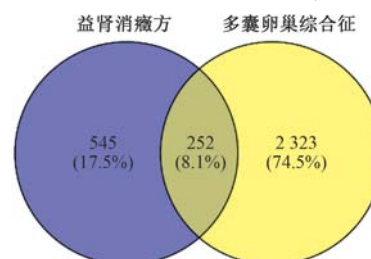


图 1 益肾消癥方与多囊卵巢综合征交互靶点韦恩图

3.3 “益肾消癥方-多囊卵巢综合征”交互靶点 PPI 网络

构建 利用 STRING 数据库对交互靶点进行蛋白互作网络分析, 绘制 PPI 网络图 (图 2), 图中网络节点为 251 个, 相互作用连线有 3 054 条, 平均度值为 24.3。节点表示作用靶点, 节点间的连线则表示靶点间具有相互作用, 互相关联。

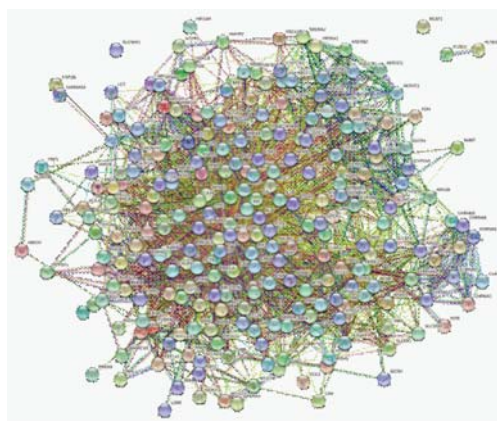


图 2 交互靶点 PPI 网络图

3.4 GO 富集分析 从 DAVID 生物信息在线数据库中确定 GO 条目 867 条, 其中, 生物学过程 (biological process, BP) 612 条, 主要涉及对药物、乙醇、缺氧、尼古丁等反应性, 氧化还原过程, 对 RNA 聚合酶 II 启动子转录的起始及正调控, 类固醇激素介导的信号通路及代谢过程, 突触传递及胆碱能等; 细胞组成 (cellular component, CC) 84 条, 涉及乙酰胆碱门控通道复合物、胞质溶胶、细胞器膜、质膜、细胞外泌体、膜筏、突触后膜和核苷酸激活的蛋白激酶复合物等; 分子功能 (molecular function, MF) 171 条, 与药物、酶、乙酰胆碱、血红素、铁离子、氧等结合, 类固醇激素受体, 乙酰胆碱激活的阳离子选择性通道, 配体门控离子通道, 乙酰胆碱受体等活性密切相关。以上分析均取排名前 10 条目作图, 见图 3。

3.5 KEGG 富集分析 将疾病和药物交集的关键靶点输入 String 数据库, 共富集到 211 条通路。根据 $P < 0.05$ 选取排名前 10 的通路作图, 见图 4。分析富集结果可知, 益肾消癥方-多囊卵巢综合征交互靶点涉及雌激素信号通路、神经活性配体-受体相互作用、类固醇激素的合成、胆碱能突触、多巴胺能突触、胰岛素抵抗及非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD)、流体剪切应力与动脉粥样硬化等疾病。

3.6 分子对接结果 将交互靶点 PPI 网络图的 TSV 文件导入 Cytoscape 3.6.0 软件中分析节点信息, 筛选出前 6 个核心调控基因靶点, 结果见表 2。以潜在靶标数 > 40 以及 ETCM 上类药性 (DL) 评分 > 0.5 作为筛选条件得到主要潜在活性成分, 与核心调控基因靶点进行对接, 结果发现大部分成分均具有较好对接活性。选取类药性评分最高 (0.823), 潜在靶标数为 44 的乔松素作为代表性成分, 与 INS (图 5A)、ALB (图 5B)、Akt1 (图 5C) 进行分子对接进行分析验证。其中, 乔松素小分子与 INS 蛋白氨基酸

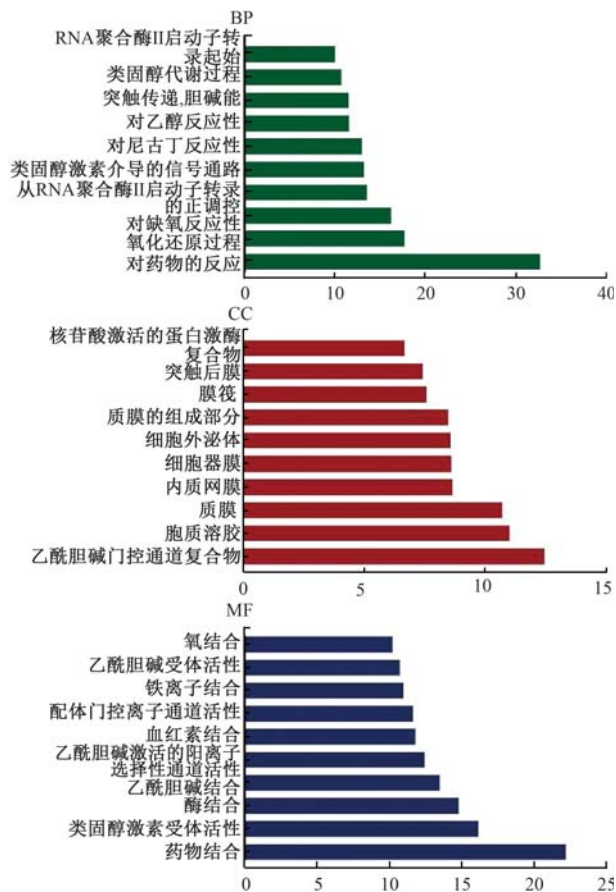


图 3 GO 富集分析结果柱状图 (前 10)

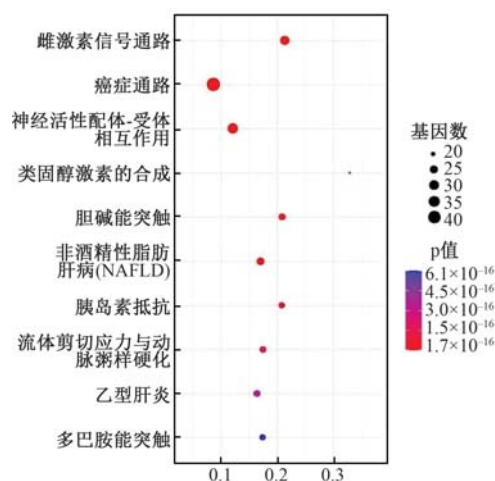


图 4 KEGG 富集分析结果 (前 10)

Gly20 和 Phe24 形成 3 个氢键, 与氨基酸 Phe24 形成 2 个 π - π 作用; 与 ALB 蛋白氨基酸 Arg117 和 Arg186 形成 2 个氢键, 与氨基酸 Tyr138 和 Tyr161 形成 2 个 π - π 作用; 与 Akt1 蛋白的氨基酸 Asn279 和 Asp292 形成 2 个氢键, 这些相互作用使得化合物乔松素能与 INS、ALB、Akt1 等蛋白形成稳定的复合物, 与蛋白的活性口袋有较好匹配。

3.7 益肾消癥方对大鼠动情周期的影响 正常组大鼠均表现为规律动情周期; 模型组中 11 只大鼠无交替变化的规律动情周期, 提示排卵障碍; 益肾消癥方组有 4 只大鼠表现

表 2 益肾消癥方治疗多囊卵巢综合征关键靶点拓扑学分析

基因	全称	度值
INS	胰岛素	136
ALB	白蛋白	112
Akt1	α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1	109
TP53	细胞肿瘤抗原 p53	95
IL6	白细胞介素 6	93
MAPK3	丝裂原激活的蛋白激酶 3	92

规律动情周期变化,6 只则呈不规律动情周期变化;枸橼酸氯米芬组中有 3 只大鼠呈规律动情周期变化,7 只呈不规律动情周期变化,见表 3。

表 3 益肾消癥方对大鼠动情周期的影响

组别	规律变化数量/只	不规律变化数量/只	无规律变化数量/只
正常组	12	0	0
模型组	0	1	11
枸橼酸氯米芬组	3	7	2
益肾消癥方组	4	6	2

3.8 益肾消癥方对大鼠卵巢的影响 正常组大鼠卵巢表面饱满光滑,色泽较红,体积较小;模型组大鼠卵巢表面较苍白,体积增大,包膜增厚,可见包膜下较多囊状扩张的卵泡;益肾消癥方组大鼠卵巢与模型组比较则有明显改善。与正常组比较,模型组大鼠双侧卵巢质量增加($P<0.01$);与模型组比较,益肾消癥方组大鼠卵巢质量降低($P<0.01$),枸橼酸氯米芬组大鼠卵巢质量降低,但无统计学意义($P>0.05$),见表 4。正常组大鼠卵巢结构正常,可见多个黄体及不同发育阶段卵泡,颗粒细胞呈多层,排列整

齐;模型组大鼠卵巢可见大量原始卵泡,存在多个囊性窦卵泡,窦腔扩大,颗粒细胞层数减少排列稀疏,黄体组织减少;益肾消癥方组大鼠囊性卵泡壁颗粒细胞层次增加,排列整齐,优势卵泡内见有卵细胞,且黄体数量较模型组的增多,黄体体积增大,见图 6。

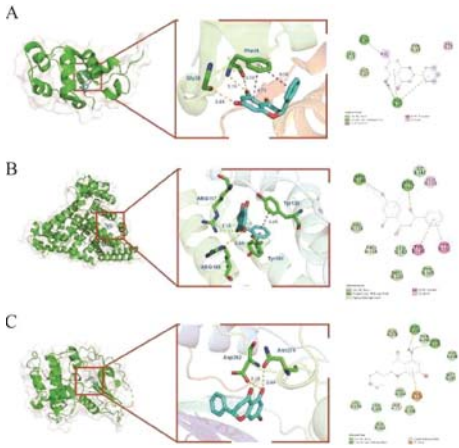


图 5 乔松素与 INS、ALB、Akt1 分子对接图

表 4 益肾消癥方对大鼠卵巢的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	双侧卵巢质量/mg
正常组	73.64 $\pm$ 1.26
模型组	111.84 $\pm$ 2.35**
枸橼酸氯米芬组	110.83 $\pm$ 2.46
益肾消癥方组	100.93 $\pm$ 1.80##

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

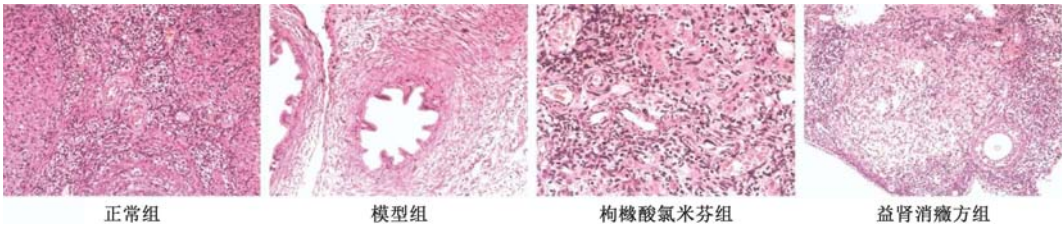


图 6 各组大鼠卵巢结构图 ($\times 100$)

4 讨论

多囊卵巢综合征多起病于青春期,以月经失调、高雄激素血症、胰岛素抵抗为基本特征^[5,14]。我国传统医学将多囊卵巢综合征归属于“月经后期、闭经、月经过少、崩漏、不孕、癥瘕”等范畴^[15-17]。现代中医学多认为该病以脏腑功能失调为本,痰瘀阻滞为标,临床表现多为虚实夹杂,本虚标实之证^[18]。

基于多年临床经验及动物实验的基础,林寒梅教授自拟益肾消癥方,方中紫石英、淫羊藿、杜仲补肾壮阳,温暖胞宫为君;菟丝子补阳益阴,女贞子养阴补血,党参益气养血,当归、川芎养血活血,共为臣药,共奏补肾活血之效;三棱、莪术、皂角刺活血化痰软坚散结;胆南星、半夏、夏枯草化痰散结;赤芍活血散瘀;以上诸药为佐药,配合君、臣药以加强益肾活血、化痰消癥之功^[10]。该方已

应用于多囊卵巢综合征的临床治疗,取得了良好疗效,为了更好地发挥益肾消癥方的治疗作用,本研究采用网络药理学对全方作用机制进行探究。结果显示,益肾消癥方可能通过调控雌激素信号通路、类固醇激素合成、胰岛素抵抗等通路来发挥对多囊卵巢综合征的治疗作用,这与降低体内雄激素的生成、改善胰岛素抵抗和降低胰岛素水平^[13]等多囊卵巢综合征治疗的要点相吻合。动物实验发现,益肾消癥方可抑制大鼠卵巢异常增大,增加卵巢黄体组织数量,改善卵巢窦状卵泡母细胞多囊样改变,恢复多囊卵巢综合征大鼠动情周期,改善多囊卵巢大鼠的排卵障碍。该治疗机制可能是通过对颗粒细胞和卵泡膜细胞的作用,降低多囊卵巢大鼠雄激素水平,促进卵母细胞生长扩大,与其他因素(如雄激素、胰岛素等)协同或拮抗作用,反馈调节促性腺激素的产生,使卵泡正常成熟发育,恢复排卵。

分子对接结果显示, 益肾消癥方中主要潜在活性成分乔松素与核心调控基因靶点 INS、ALB、Akt1 等结合性较好, 其中乔松素可降低 NAFLD 大鼠 INS 水平, 且发挥一定的肝脏保护作用^[19]; ALB 是一种主要在肝脏部位合成的结构蛋白, 可作为肝脏纤维化程度及肝脏代偿功能的评估指标^[20]; Akt1 在胰岛 β 细胞增殖中的重要作用已被广泛研究, 且 Akt1 在卵母细胞、原始卵泡膜细胞、颗粒细胞及黄体细胞中均有表达^[21]。乔松素可能作为益肾消癥方中主要活性物质, 通过调控胰岛素抵抗途径、调节卵巢生长及成熟来发挥治疗多囊卵巢综合征的作用。

综上所述, 益肾消癥方可能以“多成分-多靶点-多通路”的方式通过调控激素合成及胰岛素抵抗来治疗多囊卵巢综合征, 后续本课题组将对其活性成分及具体机制进行深入探讨, 以期益肾消癥方在临床治疗中的辨证用药提供科学依据。

参考文献:

- [1] Patel S. Polycystic ovary syndrome (PCOS), an inflammatory, systemic, lifestyle endocrinopathy[J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2018, 182: 27-36.
- [2] de Medeiros S F. Risks, benefits size and clinical implications of combined oral contraceptive use in women with polycystic ovary syndrome[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2017, 15(1): 93.
- [3] Escobar-Morreale H F. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2018, 14(5): 270-284.
- [4] 全国卫生产业企业管理协会妇幼健康产业分会生殖内分泌学组. 青春期多囊卵巢综合征诊治共识[J]. *生殖医学杂志*, 2016, 25(9): 767-770.
- [5] Cooney L G, Dokras A. Beyond fertility: polycystic ovary syndrome and long-term health[J]. *Fertil Steril*, 2018, 110(5): 794-809.
- [6] Anderson A D, Solorzano C M B, McCartney C R. Childhood obesity and its impact on the development of adolescent PCOS[J]. *Semin Reprod Med*, 2014, 32(3): 202-213.
- [7] 于德亮, 田立慧, 王彦锦. 青春期多囊卵巢综合征临床研究[J]. *现代诊断与治疗*, 2013, 24(11): 2462-2464.
- [8] Sir-Petermann T. Polycystic ovary syndrome, a pathway to type 2 diabetes[J]. *Nutrition*, 2005, 21(11-12): 1160-1163.
- [9] 何惠玲, 可 蓓. 青春期多囊卵巢综合征的诊治探讨[J]. *陕西中医*, 2011, 32(7): 870-873.
- [10] 丁 昉, 林寒梅. 益肾消癥方治疗青春期多囊卵巢综合征的临床观察[J]. *广西中医药*, 2018, 41(2): 15-17.
- [11] 姚运秀, 潘春晖, 王 晨, 等. 网络药理学在中药复方的研究进展与应用策略[J]. *成都大学学报 (自然科学版)*, 2020, 39(3): 257-263.
- [12] 段贤春, 黄 石, 彭代银, 等. 网络药理学在中药复方研究中的应用[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(3): 303-308.
- [13] 孙 林, 魏 巍, 关咏梅. u-PA、u-PAR 和 PAI-1 在睾酮联合 hCG 致多囊卵巢大鼠中的表达与意义[J]. *生殖与避孕*, 2006, 26(10): 579-583.
- [14] 马爱平, 高卫平. 达英-35 联合罗格列酮治疗青春期多囊卵巢综合征 21 例[J]. *肿瘤学杂志*, 2011, 17(4): 315-316.
- [15] 张 雯, 李 娜, 许朝霞. 多囊卵巢综合征的中医证治研究进展[J]. *世界科学技术 (中医药现代化)*, 2018, 20(5): 810-815.
- [16] 姜 北, 闫 起, 崔洪涛, 等. 《女科指要》中治疗闭经的辨治思路及方药探析[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(6): 142-146.
- [17] 姜德友, 王佳柔, 王远红. 月经过少源流考[J]. *安徽中医药大学学报*, 2020, 39(1): 1-4.
- [18] 谈 勇, 胡荣魁. 夏桂成国医大师调治 PCOS 经验探赜[J]. *江苏中医药*, 2015, 47(3): 1-4.
- [19] 孙经纬, 邵 铭. 乔松素对高脂饲养诱导的非酒精性脂肪性肝病大鼠的保护作用及机制研究[J]. *四川中医*, 2019, 37(12): 50-54.
- [20] 冯茵怡, 严炯艺, 夏 星, 等. 荔枝核总黄酮对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的影响及作用机制和潜在 Q-marker 的预测[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(23): 5722-5731.
- [21] 郑汝群, 宋金龙, 刘 华, 等. Akt 水平在 PCOS 患者中的变化及与胰岛素抵抗的相关性研究进展[J]. *中国妇幼保健*, 2020, 35(5): 966-968.