



(扫描二维码查看原文)

通脉养心丸治疗不同性别老年冠心病患者的分子机制研究

李子滢¹, 王国佐², 黄娟³, 秦莉花^{1, 2}, 李晟⁴

【摘要】 **背景** 冠心病是临床常见的心血管疾病,且心血管疾病风险存在性别差异。通脉养心丸已被广泛用于治疗冠心病,但其具体的作用机制仍不清楚。**目的** 采用生物信息学方法分析通脉养心丸治疗不同性别老年冠心病患者的分子机制。**方法** 2021年6—10月,从基因表达综合数据库(GEO)获取GSE142008数据集,将治疗前3例女性患者、3例男性患者的外周血单个核细胞样本作为对照组,治疗后3例女性患者、3例男性患者的外周血单个核细胞样本作为实验组。采用R 3.6.3软件及相关安装包进行数据预处理及差异基因的筛选,利用STRING数据库对差异基因制作蛋白质互作网络(PPI),将所得结果导入Cytoscape软件(3.8.2版本)中的MCODE、cytoHubba插件以筛选基因,再利用韦恩图在线工具将筛选出来的基因进行对比以获得关键基因。使用R 3.6.3软件及相关安装包进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析。**结果** 数据预处理结果显示:各个样本中位数基本在一个水平线上,提示样本间归一化程度好。差异基因筛选结果显示:老年女性、男性冠心病患者治疗前后比较差异基因分别有796、1 159个。PPI及关键基因选取结果显示:在老年女性冠心病患者中,最终选取了BTBD1、FBXLS、KBTBD7等10个关键基因;在老年男性冠心病患者中,最终选取了PJA2、LTN1、BTBD1等10个关键基因。在老年女性冠心病患者中,GO功能富集分析结果显示,关键基因主要富集于翻译后的蛋白质修饰等生物过程,SCF泛素连接酶复合物等细胞组成,泛素样蛋白转移酶活性等分子功能;KEGG通路富集分析结果显示,关键基因主要与泛素介导的蛋白水解、昼夜节律通路相关。在老年男性冠心病患者中,GO功能富集分析结果显示,关键基因主要富集于蛋白酶体介导的泛素依赖性蛋白质分解代谢过程等生物过程,泛素连接酶复合物等细胞组成,泛素蛋白转移酶活性等分子功能;KEGG通路富集分析结果显示,关键基因主要与泛素介导的蛋白水解通路相关。**结论** 通脉养心丸治疗不同性别老年冠心病患者具有多靶点和多通路协调的特点,在老年女性患者中,其作用机制主要与泛素介导的蛋白质水解、细胞自噬、炎症反应、铁代谢、生物钟、激素调节等有关;在老年男性患者中,其作用机制主要与泛素介导的蛋白质水解、细胞自噬、DNA损伤修复等有关。

【关键词】 冠心病;老年人;性别;通脉养心丸;分子机制;生物信息学

【中图分类号】 R 541.4 **【文献标识码】** A **DOI:** 10.12114/j.issn.1008-5971.2022.00.076

李子滢,王国佐,黄娟,等.通脉养心丸治疗不同性别老年冠心病患者的分子机制研究[J].实用心脑肺血管病杂志,2022,30(3):94-102. [www.syxnf.net]

LI Z Y, WANG G Z, HUANG J, et al. Molecular mechanism of Tongmai Yangxin pill in the treatment of elderly patients with coronary heart disease of different gender [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2022, 30 (3) : 94-102.

Molecular Mechanism of Tongmai Yangxin Pill in the Treatment of Elderly Patients with Coronary Heart Disease of Different Gender LI Ziying¹, WANG Guozuo², HUANG Juan³, QIN Lihua^{1, 2}, LI Sheng⁴

1. School of Nursing, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Key Laboratory of Hunan Province for Prevention and Treatment of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine on Cardio-cerebral Diseases, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Medical School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

4. School of Management and Engineering Information, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Corresponding author: QIN Lihua, E-mail: 479157643@qq.com

【Abstract】 **Background** Coronary heart disease is a common clinical cardiovascular disease, and there are gender

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81904180);湖南省教育厅科学研究项目(20B429, 18C0375);湖南省自然科学基金资助项目(2018JJ3390, 2020JJ4467);长沙市科技计划项目(kq1801045);2021年湖南省研究生科研创新项目(CX20210717)

1.410208湖南省长沙市,湖南中医药大学护理学院 2.410208湖南省长沙市,湖南中医药大学中西医结合心脑疾病防治湖南省重点实验室 3.410208湖南省长沙市,湖南中医药大学医学院 4.410208湖南省长沙市,湖南中医药大学管理与工程信息学院

通信作者:秦莉花, E-mail: 479157643@qq.com

differences in the risk of cardiovascular disease. Tongmai Yangxin pill has been widely used in the treatment of coronary heart disease, but its specific mechanism of action is still unclear. **Objective** To analyze the molecular mechanism of Tongmai Yangxin pill in the treatment of elderly patients with coronary heart disease of different gender by bioinformatics methods. **Methods** The GSE142008 data set was loaded from the gene expression omnibus datasets (GEO) from June to October 2021. The peripheral blood mononuclear cell samples of 3 female patients and 3 male patients before treatment were used as the control group, and the peripheral blood mononuclear cell samples of 3 female patients and 3 male patients after treatment were used as the experimental group. R 3.6.3 software and related installation packages were used to data preprocessing and screen differential genes. The STRING database was used to create protein–protein interaction networks (PPI) for the differential genes, and the results were imported into the MCODE and cytoHubba plugins in Cytoscape software (version 3.8.2) to screen genes, then the Venn diagram online tool was used to compare the screened genes to obtain key genes. The GO functional enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis were performed by R 3.6.3 software and related installation packages. **Results** The data preprocessing results showed that the median of each sample was basically on the same horizontal line, indicating that the degree of normalization between samples was good. The results of differential gene screening showed that there were 796 and 1 159 differential genes in elderly women and men with coronary heart disease before and after treatment, respectively. The results of PPI and key gene selection showed that 10 key genes including BTBD1, FBXL5, KBTBD7 were finally selected in elderly female patients with coronary heart disease; 10 key genes including PJA2, LTN1, BTBD1 were finally selected in elderly male patients with coronary heart disease. In elderly female patients with coronary heart disease, GO functional enrichment analysis showed that key genes were mainly enriched in biological processes such as post-translational protein modification, cellular composition such as SCF ubiquitin ligase complex, and molecular functions such as ubiquitin–like protein transferase activity; KEGG pathway enrichment analysis showed that key genes were mainly related to ubiquitin–mediated proteolysis and circadian rhythm pathways. In elderly male patients with coronary heart disease, GO functional enrichment analysis showed that key genes are mainly enriched in biological processes such as proteasome–mediated ubiquitin–dependent protein catabolism, cellular composition such as ubiquitin ligase complex, and molecular functions such as ubiquitin protein transferase activity; the results of KEGG pathway enrichment analysis showed that the key genes were mainly related to the ubiquitin–mediated proteolytic pathway. **Conclusion** Tongmai Yangxin pill has the characteristics of multi-target and multi-channel coordination in the treatment of elderly patients with coronary heart disease of different gender. In elderly female patients, its mechanism of action is mainly related to ubiquitin–mediated proteolysis, autophagy, inflammatory response, iron metabolism, circadian clock, and hormone regulation; in elderly male patients, its mechanism of action is mainly related to ubiquitin–mediated proteolysis, autophagy, and DNA damage repair.

【Key words】 Coronary disease; Aged; Gender; Tongmai Yangxin pill; Molecular mechanism; Bioinformatics

冠状动脉粥样硬化性心脏病又称冠心病，是冠状动脉发生粥样硬化病变而引起的血管管腔狭窄或阻塞，导致心肌缺血、缺氧或坏死的一种心脏病。美国心脏病协会的统计数据显示，2011—2014年美国≥20岁成年人冠心病总患病率为6.3%，2015年美国冠心病死亡人数达366 801例；推测2018年美国约72万人将首发冠心病，33.5万人将复发冠心病；在发达与不发达国家，冠心病仍是造成死亡的主要原因，严重威胁人类的生命及身体健康^[1]。目前，中国心血管疾病患病率及死亡率仍处于上升阶段，位居城乡居民总死亡原因的首位，2018年中国心血管疾病患病人数已高达3.3亿^[2-3]。在过去的20年里，越来越多的证据表明心血管疾病风险存在性别差异，女性冠心病发病时间较男性晚10~15年，女性冠心病发生率在绝经前仅是男性的1/10~3/10，绝经后则迅速升高^[4]。与男性冠心病患者相比，女性冠心病患者心血管复合终点事件和复发风险均较低，但心力衰竭、全因死亡率较高^[5]。故关注冠心病的性别差异具有一定的临床意义。

专利药物通脉养心丸在中国已被广泛用于治疗冠心病，其抗炎作用是治疗冠心病的潜在机制之一^[6]，但其具体的作用机制仍不清楚。本研究采用生物信息学方法分析通脉养心

丸治疗不同性别老年冠心病患者的分子机制，以期为冠心病的治疗和中药复方的研发提供新思路。

1 资料与方法

1.1 数据集的获取 2021年6—10月，从基因表达综合数据库 (gene expression omnibus datasets, GEO) 下载GSE142008数据集，平台号为GPL570 [HG-U133_Plus_2] Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 Array。本研究从GSE142008数据集选取老年冠心病患者12例，年龄≥60岁。将治疗前3例女性患者、3例男性患者的外周血单个核细胞样本作为对照组，通脉养心丸治疗后3例女性患者、3例男性患者的外周血单个核细胞样本作为实验组。

1.2 数据预处理及差异基因的筛选 采用R 3.6.3软件进行数据的统计分析与可视化。使用ggplot2包 (3.3.3版本) 绘制样本数据归一化的箱式图。差异基因的筛选参数标准为 $|\log_2(\text{FC})| > 1$ ，校正P值 <0.05 。使用ComplexHeatmap包 (2.2.0版本) 绘制热图^[7]，以直观地展示各差异基因在每个样本中的表达情况；使用ggplot2包 (3.3.3版本) 绘制数据火山图，以直观地展示差异基因的分布情况。

1.3 蛋白质互作网络 (protein–protein interaction networks,

PPI) 的制作及关键基因的选取 参考文献 [8] , 利用 STRING数据库 (http://string-db.org) 对差异基因制作PPI, 蛋白互作分数阈值为0.40, 将所得结果导入Cytoscape软件 (3.8.2版本) 中的MCODE、cytoHubba插件以筛选基因, 再利用韦恩图在线工具将筛选出来的基因进行对比以获得关键基因。

1.4 GO功能富集分析和KEGG通路富集分析 使用R 3.6.3软件进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析, 其中org.Hs.eg.db包 (3.10.0版本) 用于ID转换, clusterProfiler包 (3.14.3版本) [9] 用于富集分析, ggplot2包 (3.3.3版本) 用于可视化及可视化网络图制作。以校正P值<0.05、*q*值<0.2为阈值筛查差异基因的主要富集功能和通路。

2 结果

2.1 数据预处理结果 各个样本中位数基本在一个水平线上, 提示样本间归一化程度好, 见图1。

2.2 差异基因筛选结果 老年女性冠心病患者治疗前后比较差异基因有796个, 其中高表达776个、低表达20个; 老年男性冠心病患者治疗前后比较差异基因有1 159个, 其中高表达1 117个、低表达42个, 见表1、图2~3。

2.3 PPI及关键基因选取结果 在老年女性冠心病患者中, MCODE插件分析结果显示, 一共有16个聚类, 选择分数最高的聚类1, 得分为25分、节点为25个、边数为300条, 筛选出的基因为LONRF1、FBXL3、LTN1、KBTBD7、UBE2E1、UBE2Q2、UBE2J1、FBXL5、HACE1、RNF6、UBE2W、RNF138、BTBD1、UBA3、TCEB1、CUL5、UBE2V2、MEX3C、FBXO11、ZNRF2、RCHY1、UBR1、PJA2、UFL1、RNF14, 见图4A; cytoHubba插件分析结果显示, 按照得分由高到低的基因依次为BTBD1、FBXL5、KBTBD7、FBXL3、FBXO11、CUL5、TCEB1、UBA3、LTN1、UBR1, 见图5A。最终选取的关键基因为BTBD1、FBXL5、KBTBD7、FBXL3、FBXO11、CUL5、TCEB1、UBA3、LTN1、UBR1。

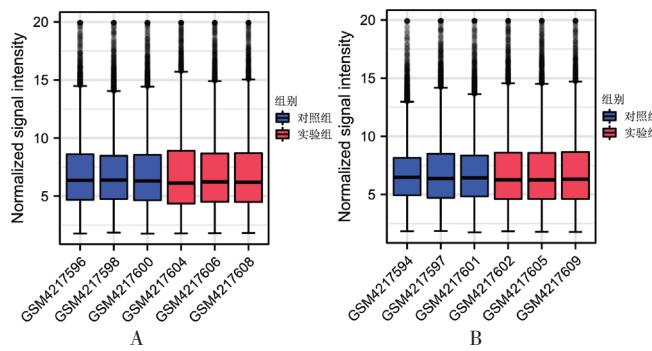
在老年男性冠心病患者中, MCODE插件分析结果显示, 一共有25个聚类, 选择分数最高的聚类1, 得分为34分、节点为34个、边数为561条, 筛选出的基因为KCTD6、FBXL5、RCHY1、UBE2E1、FBXW7、UBE2Q2、UBE2J1、CUL3、SIAH1、UBE2V2、HACE1、BTBD1、RNF111、RNF138、KLHL2、UBE2W、MEX3C、UBE2D1、LONRF1、ANAPC4、HERC4、CUL5、PJA2、RNF6、KBTBD6、KBTBD7、UBE2A、UFL1、UBA3、LTN1、KLHL9、UBR1、ARIH2、FBXL3, 见图4B; cytoHubba插件分析结果显示, 按照得分由高到低的基因依次为PJA2、LTN1、BTBD1、CUL3、ANAPC4、UBR1、RNF138、HACE1、SIAH1、UBE2D1, 见图5B。最终选取的关键基因为PJA2、LTN1、BTBD1、CUL3、ANAPC4、UBR1、RNF138、HACE1、SIAH1、UBE2D1。

2.4 GO功能富集分析和KEGG通路富集分析结果 在老年女性冠心病患者中, GO功能富集分析结果显示, 关键基因主要富集于翻译后的蛋白质修饰、蛋白酶体介导的泛素依赖性蛋白质分解代谢过程等生物过程; 泛素连接酶复合物、cullin-RING泛素连接酶复合物等细胞组成; 泛素样蛋白转移酶活

表1 不同性别老年冠心病患者治疗前后比较排名前10位的上调和下调差异基因

Table 1 The top 10 up-regulated and down-regulated differential genes in elderly patients with coronary heart disease of different genders before and after treatment

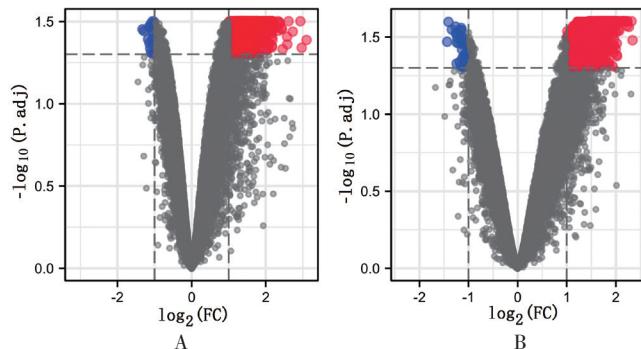
性别	基因ID	基因名称	校正P值	$\log_2(F\text{C})$	高表达/低表达
女性	223716_s_at	ZRANB2	0.033	2.340	高表达
	202971_s_at	DYRK2	0.025	2.321	高表达
	201238_s_at	CAPZA2	0.027	2.267	高表达
	222850_s_at	DNAJB14	0.025	2.236	高表达
	226297_at	HIPK3	0.025	2.233	高表达
	239577_at	RP3-368A4.6	0.027	2.226	高表达
	204160_s_at	ENPP4	0.025	2.177	高表达
	222657_s_at	UBE2W	0.025	2.175	高表达
	224866_at	FAR1	0.025	2.150	高表达
	202769_at	CCNG2	0.025	2.136	高表达
男性	223716_s_at	ZRANB2	0.033	2.340	高表达
	202971_s_at	DYRK2	0.025	2.321	高表达
	204774_at	EVI2A	0.074	2.309	高表达
	201238_s_at	CAPZA2	0.027	2.267	高表达
	222850_s_at	DNAJB14	0.025	2.236	高表达
	226297_at	HIPK3	0.025	2.233	高表达
	239577_at	RP3-368A4.6	0.027	2.226	高表达
	204160_s_at	ENPP4	0.025	2.177	高表达
	222657_s_at	UBE2W	0.025	2.175	高表达
	224866_at	FAR1	0.025	2.150	高表达
女性	1556900_at	APCDD1L-AS1	0.034	-1.435	低表达
	237266_at	KCNIP2-AS1	0.025	-1.409	低表达
	202517_at	CRMP1	0.028	-1.339	低表达
	217930_s_at	TOLLIP	0.027	-1.263	低表达
	223856_at	AKR1E2	0.030	-1.257	低表达
	210226_at	NR4A1	0.047	-1.243	低表达
	1556291_at	POM121L12	0.034	-1.237	低表达
	1553114_a_at	PTK6	0.030	-1.230	低表达
	223121_s_at	SFRP2	0.032	-1.228	低表达
	234846_at	LOC100130370	0.034	-1.204	低表达
男性	1569105_at	SCOC	0.067	-1.674	低表达
	215684_s_at	SETD5	0.103	-1.485	低表达
	1556900_at	ASCC2	0.034	-1.435	低表达
	237266_at	CAPNS1	0.025	-1.409	低表达
	396_f_at	EPOR	0.065	-1.401	低表达
	201052_s_at	PAK4	0.064	-1.379	低表达
	208487_at	APCDD1L-AS1	0.061	-1.370	低表达
	202517_at	PSMF1	0.028	-1.339	低表达
	214433_s_at	SNRPB	0.230	-1.320	低表达
	229807_s_at	SOX15	0.076	-1.292	低表达



注：A为女性，B为男性

图1 不同性别老年冠心病患者样本数据的箱式图

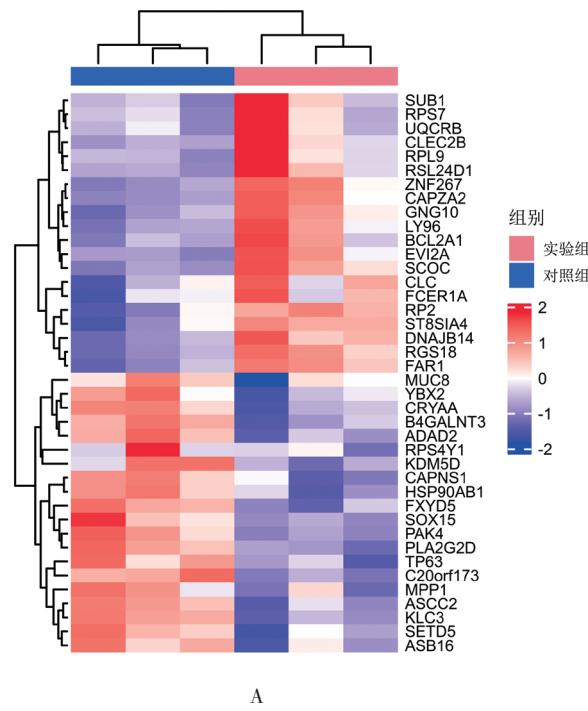
Figure 1 Box plot of sample data of elderly patients with coronary heart disease of different genders



注：红色代表上调基因，蓝色代表下调基因；A为女性，B为男性

图2 不同性别老年冠心病患者差异基因的火山图

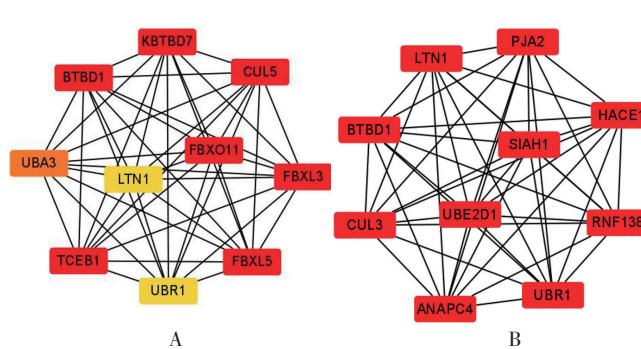
Figure 2 Volcano plot of differential genes in elderly patients with coronary heart disease of different genders



注：红色为基因表达水平上调，蓝色为基因表达水平下调；颜色深浅表示表达量的变化程度；A为女性，B为男性

图3 不同性别老年冠心病患者差异基因的热图

Figure 3 Thermogram of differential genes in elderly patients with coronary heart disease of different genders



注：A为女性，B为男性

图5 cytoHubba插件分析结果

Figure 5 Analysis results of cytoHubba plugin



图4 MCODE插件分析结果

Figure 4 Analysis results of MCODE plugin

性、泛素蛋白连接酶活性等分子功能。KEGG通路富集分析结果显示,关键基因主要与泛素介导的蛋白水解、昼夜节律通路相关,见表2、图6A、图7A。

在老年男性冠心病患者中,GO功能富集分析结果显示,关键基因主要富集于蛋白酶体介导的泛素依赖性蛋白质分解

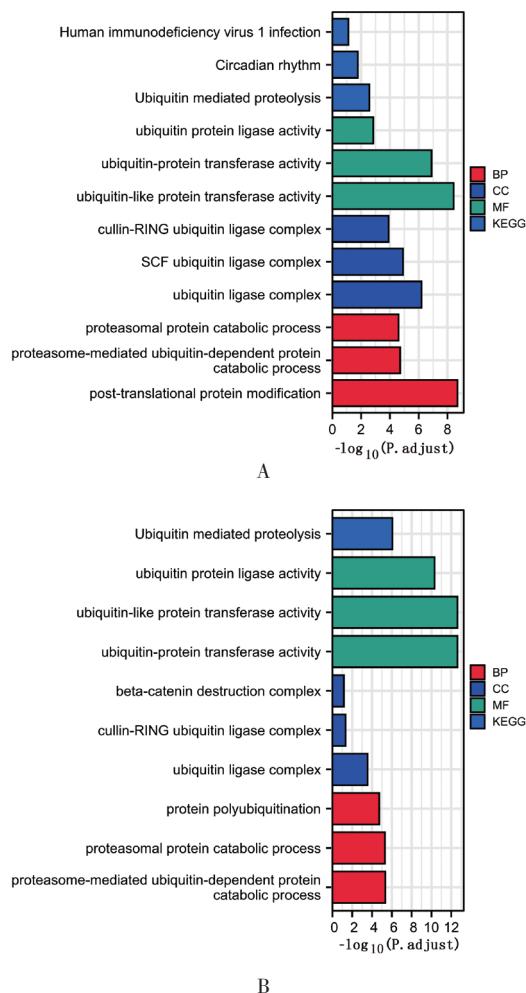
代谢过程、蛋白酶体蛋白质分解代谢过程等生物过程;泛素连接酶复合物、cullin-RING泛素连接酶复合物等细胞组成;泛素蛋白转移酶活性、泛素样蛋白转移酶活性等分子功能。KEGG通路富集分析结果显示,关键基因主要与泛素介导的蛋白水解通路相关,见表2,图6B、图7B。

表2 不同性别老年冠心病患者关键基因的GO功能富集分析和KEGG通路富集分析结果

Table 2 GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis of key genes in elderly patients with coronary heart disease of different genders

性别	类目	ID	功能/通路描述	GeneRatio	BgRatio	P值	校正P值	q值	基因名称
女性	BP	GO: 0043687	翻译后的蛋白质修饰	7/9	361/18 670	3.32e-11	1.99e-09	1.33e-09	CUL5、UBA3、FBXL3、FBXL5、BTBD1、FBXO11、KBTBD7
	BP	GO: 0043161	蛋白酶体介导的泛素依赖性蛋白质分解代谢过程	5/9	419/18 670	6.50e-07	1.95e-05	1.30e-05	CUL5、LTN1、FBXL3、FBXL5、UBR1
	BP	GO: 0010498	蛋白酶体蛋白质分解代谢过程	5/9	477/18 670	1.23e-06	2.47e-05	1.65e-05	CUL5、LTN1、FBXL3、FBXL5、UBR1
	BP	GO: 0031146	SCF依赖性蛋白酶体泛素依赖性蛋白质分解代谢过程	3/9	95/18 670	1.05e-05	1.57e-04	1.05e-04	CUL5、FBXL3、FBXL5
	BP	GO: 0000209	蛋白质多泛素化	3/9	310/18 670	3.54e-04	0.004	0.003	FBXL3、FBXL5、FBXO11
男性	BP	GO: 0043161	蛋白酶体介导的泛素依赖性蛋白质分解代谢过程	6/10	419/18 670	2.40e-08	4.68e-06	2.02e-06	SIAH1、UBE2D1、CUL3、LTN1、ANAPC4、UBR1
	BP	GO: 0010498	蛋白酶体蛋白质分解代谢过程	6/10	477/18 670	5.19e-08	5.06e-06	2.19e-06	SIAH1、UBE2D1、CUL3、LTN1、ANAPC4、UBR1
	BP	GO: 0000209	蛋白质多泛素化	5/10	310/18 670	2.88e-07	1.87e-05	8.07e-06	SIAH1、UBE2D1、CUL3、ANAPC4、HACE1
	BP	GO: 0031145	后期促进复合物依赖性分解代谢过程	3/10	81/18 670	9.24e-06	4.50e-04	1.94e-04	UBE2D1、CUL3、ANAPC4
	BP	GO: 1902101	细胞周期中期/后期转变的正调控	2/10	10/18 670	1.16e-05	4.52e-04	1.95e-04	CUL3、ANAPC4
女性	CC	GO: 0000151	泛素连接酶复合物	5/9	282/19 717	6.95e-08	6.25e-07	1.46e-07	CUL5、FBXL3、FBXL5、FBXO11、UBR1
	CC	GO: 0019005	SCF泛素连接酶复合物	3/9	64/19 717	2.70e-06	1.22e-05	2.84e-06	CUL5、FBXL3、FBXL5
	CC	GO: 0031461	cullin-RING泛素连接酶复合物	3/9	158/19 717	4.09e-05	1.23e-04	2.87e-05	CUL5、FBXL3、FBXL5
	CC	GO: 0000502	蛋白酶体复合物	1/9	63/19 717	0.028	0.051	0.012	UBR1
	CC	GO: 1905369	内肽酶复合物	1/9	64/19 717	0.029	0.051	0.012	UBR1
男性	CC	GO: 0000151	泛素连接酶复合物	4/10	282/19 717	8.04e-06	2.81e-04	1.52e-04	UBE2D1、CUL3、ANAPC4、UBR1
	CC	GO: 0031461	cullin-RING泛素连接酶复合物	2/10	158/19 717	0.003	0.048	0.026	CUL3、ANAPC4
	CC	GO: 0030877	β-连环蛋白破坏复合物	1/10	12/19 717	0.006	0.071	0.038	SIAH1
	CC	GO: 0005680	后期促进复合物	1/10	21/19 717	0.011	0.093	0.050	ANAPC4
女性	MF	GO: 0019787	泛素样蛋白转移酶活性	7/9	407/17 697	1.12e-10	3.69e-09	2.36e-09	CUL5、UBA3、LTN1、FBXL3、FBXL5、FBXO11、UBR1
	MF	GO: 0004842	泛素蛋白转移酶活性	6/9	382/17 697	7.74e-09	1.28e-07	8.14e-08	CUL5、LTN1、FBXL3、FBXL5、FBXO11、UBR1
	MF	GO: 0061630	泛素蛋白连接酶活性	3/9	221/17 697	1.53e-04	0.001	9.04e-04	LTN1、FBXL3、UBR1
	MF	GO: 0061659	泛素样蛋白连接酶活性	3/9	230/17 697	1.72e-04	0.001	9.04e-04	LTN1、FBXL3、UBR1
	MF	GO: 0008641	泛素样修饰剂激活酶活性	1/9	10/17 697	0.005	0.026	0.017	UBA3
男性	MF	GO: 0004842	泛素蛋白转移酶活性	9/10	382/17 697	9.09e-15	2.34e-13	9.36e-14	SIAH1、UBE2D1、CUL3、PJA2、LTN1、ANAPC4、RNF138、HACE1、UBR1
	MF	GO: 0019787	泛素样蛋白转移酶活性	9/10	407/17 697	1.62e-14	2.34e-13	9.36e-14	SIAH1、UBE2D1、CUL3、PJA2、LTN1、ANAPC4、RNF138、HACE1、UBR1
	MF	GO: 0061630	泛素蛋白连接酶活性	7/10	221/17 697	5.01e-12	4.81e-11	1.92e-11	SIAH1、PJA2、LTN1、ANAPC4、RNF138、HACE1、UBR1
	MF	GO: 0061659	泛素样蛋白连接酶活性	7/10	230/17 697	6.64e-12	4.81e-11	1.92e-11	SIAH1、PJA2、LTN1、ANAPC4、RNF138、HACE1、UBR1
	MF	GO: 0034236	蛋白激酶A催化亚基结合	1/10	13/17 697	0.007	0.035	0.014	PJA2
女性	KEGG	hsa04120	泛素介导的蛋白水解	2/3	140/8 076	8.85e-04	0.003	9.32e-04	CUL5、UBA3
	KEGG	hsa04710	昼夜节律	1/3	31/8 076	0.011	0.017	0.006	FBXL3
	KEGG	hsa05170	人类免疫缺陷病毒1感染	1/3	212/8 076	0.077	0.077	0.027	CUL5
男性	KEGG	hsa04120	泛素介导的蛋白水解	4/4	140/8 076	8.66e-08	8.66e-07	5.47e-07	SIAH1、UBE2D1、CUL3、ANAPC4

注:BP=生物过程,CC=细胞组成,MF=分子功能;GeneRatio表示富集到目的功能/通路的基因数占基因列表包含基因集总基因比例;BgRatio表示目标功能/通路基因占功能/通路集总基因比例



注: BP=生物过程, CC=细胞组成, MF=分子功能; A为女性, B为男性

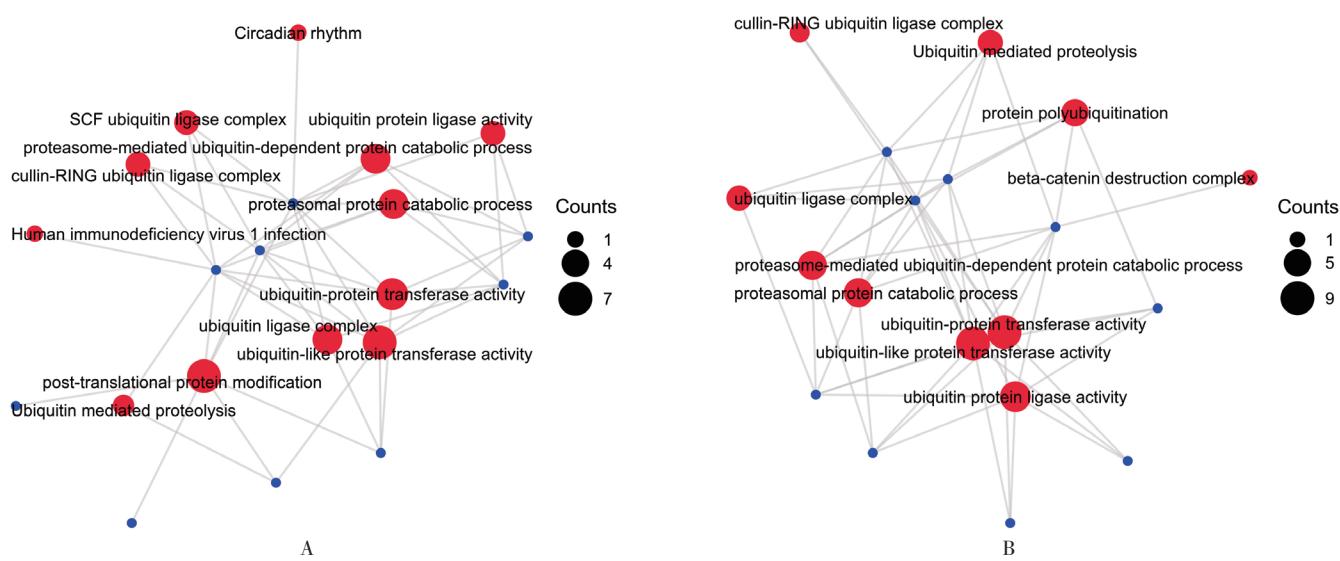
图6 GO功能富集分析和KEGG通路富集分析的柱状图

Figure 6 Histogram of GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis

3 讨论

冠心病归属于中医学“心痛”“胸痹”等范畴,中医药运用于冠心病临床治疗的历史悠久且疗效显著,应用前景广阔^[10]。通脉养心丸源于两大经典方剂炙甘草汤和生脉散,其由地黄、鸡血藤、甘草、五味子、麦冬等中药材组成,具有益气养阴、通脉止痛的功效,临幊上用于治疗胸痛、心痛、气阴两虚型冠心病等^[11]。既往研究表明,通脉养心丸可通过保护心肌细胞及血管内皮细胞、抑制炎性因子表达等有效治疗冠心病,但其具体的作用机制仍有待进一步研究^[12]。因此,研究通脉养心丸治疗冠心病的分子机制,对冠心病的临床治疗及通脉养心丸的推广和二次开发具有重要的临床意义。

本研究以治疗前患者外周血单个核细胞样本为对照组,通脉养心丸治疗后患者外周血单个核细胞样本为实验组,最终筛选出关键基因,结果显示,老年女性冠心病患者的关键基因为BTBD1、FBXL5、KBTBD7、FBXL3、FBXO11、CUL5、TCEB1、UBA3、LTN1、UBR1;老年男性冠心病患者的关键基因为PJA2、LTN1、BTBD1、CUL3、ANAPC4、UBR1、RNF138、HACE1、SIAH1、UBE2D1。通脉养心丸可能主要通过调控以上基因的表达来治疗冠心病。BTBD1是一种含有BTB结构域的蛋白,与DNA拓扑异构酶1相互作用,参与肌生成的过程和泛素/蛋白酶体降解途径,该过程和途径与心血管疾病密切相关^[13]。FBXL5被鉴定为SCF泛素连接酶复合物的底物受体亚基,缺乏FBXL5表达的细胞无法识别其铁代谢状态,从而不断积累有毒的生物可利用铁^[14],而高水平的储存铁能够增加冠心病发病风险^[15]。KBTBD7参与炎性因子的表达调控,能够抑制炎症反应^[16],而炎症因子及炎症反应与冠心病发病有关。FBXL3是SCF泛素连接酶复合物的一部分,主要在细胞核内发挥作用,其可以通过与隐花色素蛋白结合来影响负反馈环,加速哺乳动物的SCF复合物介导的多泛素化和随后的蛋白酶体降解,从而维持哺乳动物的昼夜节律^[17]。FBXO11属于泛素连接酶E3家族,有研究表明,



注: 红色代表上调基因, 蓝色代表下调基因; A为女性, B为男性

图7 GO功能富集分析和KEGG通路富集分析的可视化网络图

Figure 7 Visual network diagram of GO function enrichment analysis and KEGG pathway enrichment analysis

FBXO11可以通过破坏缺氧诱导因子1 α mRNA来抑制细胞对缺氧的反应^[18]。本研究认为,通脉养心丸可通过FBXO11在心肌细胞缺氧过程中起保护作用,从而影响冠心病的疾病进程和患者预后。CUL5是泛素连接酶复合物中的一种支架蛋白,其介导的内脂素可以保护人冠状动脉内皮细胞免受损伤^[19]。TCEB1即转录延伸因子B1,有研究表明,TCEB1是多囊卵巢综合征的潜在治疗靶点,而多囊卵巢综合征可导致动脉粥样硬化和心血管疾病^[20]。UBA3可以抑制抗凝血酶的泛素化和降解,增加抗凝血酶蛋白表达水平^[21]。LTN1通过靶向异常的新生多肽进行蛋白酶体降解,在核糖体相关蛋白质量控制中发挥关键作用,与神经退行性疾病有关^[22]。但目前尚未发现LTN1与冠心病之间的关系,本研究发现其是冠心病相关的新基因,但其具体作用及机制还需要进一步研究验证。UBR1属于E3泛素连接酶家族,对于心脏的发育至关重要,其缺陷会导致心血管的异常^[23]。PJA2是一种泛素连接酶,是动脉粥样硬化的枢纽基因,参与其发展过程^[24]。CUL3对维持内皮屏障的完整性至关重要,CUL3突变的患者可表现出严重的早发性高血压、血管功能障碍和动脉僵硬^[25]。ANAPC4是细胞周期后期促进复合物的核心亚基之一,驱动细胞周期从中期到后期进展的一个重要调节因子^[26],而细胞周期的运行与冠心病存在密切联系^[27]。RNF138是一种DNA损伤反应蛋白,可参与DNA的损伤修复过程^[28],而DNA修复相关基因的缺陷可能与DNA损伤修复效能的差异有关,最终导致心血管事件的发生^[29]。HACE1是一种E3泛素连接酶,可以通过参与自噬介导的蛋白质降解来对心脏起保护作用^[30]。SIAH1是泛素蛋白连接酶的一种,可参与细胞自噬过程^[31]。UBE2D1是三类泛素化酶之一,其有助于选择性降解短寿命蛋白或异常蛋白^[32]。

本研究GO功能富集分析和KEGG通路富集分析结果显示,通脉养心丸在多条与冠心病相关的通路上发挥重要作用,在老年女性与男性冠心病患者中,其均与泛素介导的蛋白水解通路有关。研究表明,泛素介导的蛋白水解通路能够防止患者动脉粥样硬化病情进展^[33],从而进一步调控和缓解冠心病病情。泛素化对于自噬的诱导、调节和微调节至关重要^[34],而自噬是程序性细胞死亡的形式,参与冠心病的发生、发展和预后^[35-36]。通脉养心丸中鸡血藤中的黄酮类化合物与泛素-蛋白酶体途径有关,可抑制蛋白酶体活性,从而介导动脉粥样硬化的病理变化^[37]。本研究组认为,通脉养心丸可通过调节女性患者CUL5、UBA3基因的表达,男性患者CUL3、SIAH1、UBE2D1基因的表达,来维持内皮屏障的完整性、抗动脉粥样硬化、降低细胞死亡率等,从而达到治疗疾病的目的。

在老年女性患者中,通脉养心丸治疗冠心病还与昼夜节律通路相关。昼夜节律是指一种周期约为24 h的生物节律,与睡眠、饮食、情绪、代谢等多方面的功能有关^[38-39]。女性雌激素受体受昼夜节律影响^[40],且介导雌激素可促进血管内皮细胞的生长或修复以及一氧化氮的释放等,从而保护心血管系统^[41]。研究表明,昼夜节律紊乱会影响心血管疾病的发生、发展^[42]。通脉养心丸中的五味子能够治疗失眠类疾病^[43],

鸡血藤能够调节失眠和抑郁情绪^[16],阿胶和大枣能够提高雌激素水平^[44-45]。本研究组认为,通脉养心丸可通过调节FBXL3的表达来调控昼夜节律,改善患者睡眠情况和情绪状态,从而调节激素水平等,进而达到治疗老年女性冠心病患者的目的。

综上所述,通脉养心丸治疗不同性别老年冠心病患者具有多靶点和多通路协调的特点,在老年女性患者中,其作用机制主要与泛素介导的蛋白质水解、细胞自噬、炎症反应、铁代谢、生物钟、激素调节等有关;在老年男性患者中,其作用机制主要与泛素介导的蛋白质水解、细胞自噬、DNA损伤修复等有关。本研究对冠心病的临床治疗和通脉养心丸的二次开发提供了一定参考,但本研究是基于生物信息学方法进行的预测和分析,数据仅来源于GEO数据库中所纳入的治疗前后不同性别患者的外周血单个核细胞样本,研究结果可能存在一定偏倚,通脉养心丸治疗冠心病的具体作用靶点和分子机制还需要进一步研究。

作者贡献: 秦莉花进行文章的构思与设计,负责文章的质量控制及审校,对文章整体负责、监督管理;李子滢撰写、修订论文;王国佐、黄娟负责资料收集、整理;李晨负责数据分析。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] BENJAMIN E J, VIRANI S S, CALLAWAY C W, et al. Heart disease and stroke statistics—2018 update: a report from the American Heart Association [J]. Circulation, 2018, 137 (12): e67-492. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000558.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告2020概要 [J].中国循环杂志, 2021, 36 (6): 521-545. DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2021.06.001.
- [3] 权威发布——数据“说”冠心病 [J].实用心脑肺血管病杂志, 2021, 29 (9): 前插1.
- [4] 肖亚莉, 黄鹤, 黄丹, 等.心血管疾病死亡患者住院死亡时间与年龄性别的关系分析 [J].医学研究杂志, 2016, 45 (2): 31-34. DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.02.009.
- [5] AKYEA R K, KONTOPANTELIS E, KAI J, et al. Sex disparity in subsequent outcomes in survivors of coronary heart disease [J]. Heart, 2022, 108 (1): 37-45. DOI: 10.1136/heartjnl-2021-319566.
- [6] FAN Y D, LIU J W, MIAO J, et al. Anti-inflammatory activity of the Tongmai Yangxin pill in the treatment of coronary heart disease is associated with estrogen receptor and NF- κ B signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 276: 114106. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114106.
- [7] GU Z G, EILS R, SCHLESNER M. Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data [J]. Bioinformatics, 2016, 32 (18): 2847-2849. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw313.
- [8] SZKLARCZYK D, GABLE A L, LYON D, et al. STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets [J]. Nucleic Acids Res, 2019, 47 (D1): D607-613. DOI: 10.1093/nar/gky493.

- 10.1093/nar/gky1131.
- [9] YU G C, WANG L G, HAN Y Y, et al. clusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. OMICS, 2012, 16 (5): 284–287. DOI: 10.1089/omi.2011.0118.
- [10] 谢林园, 赵明芬. 中医药治疗冠心病伴抑郁焦虑障碍的研究进展 [J]. 新疆中医药, 2019, 37 (5): 101–104.
- [11] CHEN R, CHEN T, WANG T Q, et al. Tongmai Yangxin pill reduces myocardial no-reflow by regulating apoptosis and activating PI3K/Akt/ENOS pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2020, 261: 113069. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113069.
- [12] 刘志超, 王哲, 唐倩, 等. 通脉养心丸治疗冠心病作用机制及临床应用研究进展 [J]. 中国中医急症, 2018, 27 (7): 1304–1306. DOI: 10.3969/j.issn.1004-745X.2018.07.055.
- [13] PISANI D F, COLDEFY A S, ELABD C, et al. Involvement of BTBD1 in mesenchymal differentiation [J]. Exp Cell Res, 2007, 313 (11): 2417–2426. DOI: 10.1016/j.yexcr.2007.03.030.
- [14] RUIZ J C, WALKER S D, ANDERSON S A, et al. F-box and leucine-rich repeat protein 5 (FBXL5) is required for maintenance of cellular and systemic iron homeostasis [J]. J Biol Chem, 2013, 288 (1): 552–560. DOI: 10.1074/jbc.M112.426171.
- [15] 刘越. 铁代谢水平与冠心病及其病变程度的相关性研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [16] YANG L, WANG B, ZHOU Q, et al. MicroRNA-21 prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction after myocardial infarction through targeting KBTBD7 [J]. Cell Death Dis, 2018, 9 (7): 769. DOI: 10.1038/s41419-018-0805-5.
- [17] CORREIA S P, CHAN A B, VAUGHAN M, et al. The circadian E3 ligase complex SCFFBXL3+CRY targets TLK2 [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 198. DOI: 10.1038/s41598-018-36618-3.
- [18] JU U I, PARK J W, PARK H S, et al. FBXO11 represses cellular response to hypoxia by destabilizing hypoxia-inducible factor-1 α mRNA [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 464 (4): 1008–1015. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.07.037.
- [19] SHI Z H, YAO J M, MA X H, et al. CUL5-mediated visfatin (NAMPT) degradation blocks endothelial proliferation and angiogenesis via the MAPK/PI3K-AKT signaling [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2021, 78 (6): 891–899. DOI: 10.1097/FJC.0000000000001146.
- [20] DONG R, GAO S, SHAN M J. Identification of the similarly expressed genes in patients with polycystic ovary syndrome and transsexuals [J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100 (35): e26990. DOI: 10.1097/MD.00000000000026990.
- [21] XU D C, WU J W, CHEN J H, et al. Cullin 2-RBX1 E3 ligase and USP2 regulate antithrombin ubiquitination and stability [J]. FASEB J, 2021, 35 (8): e21800. DOI: 10.1096/fj.202001146RR.
- [22] JOAZEIRO C A P. Mechanisms and functions of ribosome-associated protein quality control [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2019, 20 (6): 368–383. DOI: 10.1038/s41580-019-0118-2.
- [23] AN J Y, SEO J W, TASAKI T, et al. Impaired neurogenesis and cardiovascular development in mice lacking the E3 ubiquitin ligases UBR1 and UBR2 of the N-end rule pathway [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103 (16): 6212–6217. DOI: 10.1073/pnas.0601700103.
- [24] LU Y, ZHANG X, HU W, et al. The identification of candidate biomarkers and pathways in atherosclerosis by integrated bioinformatics analysis [J]. Comput Math Methods Med, 2021, 2021: 6276480. DOI: 10.1155/2021/6276480.
- [25] AGBOR L N, NAIR A R, WU J, et al. Conditional deletion of smooth muscle Cullin-3 causes severe progressive hypertension [J]. JCI Insight, 2019, 5: 129793. DOI: 10.1172/jci.insight.129793.
- [26] EIFLER K, CUIJPERS S A G, WILLESTEIN E, et al. SUMO targets the APC/C to regulate transition from metaphase to anaphase [J]. Nat Commun, 2018, 9 (1): 1119. DOI: 10.1038/s41467-018-03486-4.
- [27] 李春, 黄警. 细胞周期及其调控 [J]. 福建医药杂志, 2013, 35 (5): 146–147, 176.
- [28] HAN D, LIANG J, LU Y, et al. Ubiquitylation of Rad51d mediated by E3 ligase Rnf138 promotes the homologous recombination repair pathway [J]. PLoS One, 2016, 11 (5): e0155476. DOI: 10.1371/journal.pone.0155476.
- [29] 吕晓红. 晚期糖基化终产物受体及DNA修复相关基因多态性与冠心病的相关性研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2014.
- [30] ZHANG L, CHEN X, SHARMA P, et al. HACE1-dependent protein degradation provides cardiac protection in response to haemodynamic stress [J]. Nat Commun, 2014, 5: 3430. DOI: 10.1038/ncomms4430.
- [31] YAO R Q, REN C, XIA Z F, et al. Organelle-specific autophagy in inflammatory diseases: a potential therapeutic target underlying the quality control of multiple organelles [J]. Autophagy, 2021, 17 (2): 385–401. DOI: 10.1080/15548627.2020.1725377.
- [32] LEI L, BANDOLA-SIMON J, ROCHE P A. Ubiquitin-conjugating enzyme E2 D1 (Ube2D1) mediates lysine-independent ubiquitination of the E3 ubiquitin ligase March-I [J]. J Biol Chem, 2018, 293 (11): 3904–3912. DOI: 10.1074/jbc.RA117.001322.
- [33] 王莹, 孙瑞红. 泛素-蛋白酶体抑制剂对血管平滑肌细胞凋亡和动脉粥样硬化的影响 [J]. 实用药物与临床, 2016, 19 (6): 768–772. DOI: 10.14053/j.cnki.ppcr.201606031.
- [34] MCEWAN D G, DIKIC I. The three musketeers of autophagy: phosphorylation, ubiquitylation and acetylation [J]. Trends Cell Biol, 2011, 21 (4): 195–201. DOI: 10.1016/j.tcb.2010.12.006.
- [35] DONG Y, CHEN H W, GAO J L, et al. Molecular machinery and interplay of apoptosis and autophagy in coronary heart disease [J]. J Mol Cell Cardiol, 2019, 136: 27–41. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2019.09.001.
- [36] 李炽昌, 张卫. 不同心脏病心肌细胞糖脂代谢与自噬关系的研究进展 [J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2019, 27 (3): 1–5. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2019.03.y03.
- [37] 高志杰, 朱彤彤, 牛新茹, 等. 鸡血藤化学成分及药理活性研究进展 [J/OL]. 辽宁中医药大学学报: 1–18. [2022-01-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20210916.1208.028.html>.
- [38] JAGANNATH A, TAYLOR L, WAKAF Z, et al. The genetics

- of circadian rhythms, sleep and health [J]. *Hum Mol Genet*, 2017, 26 (R2) : R128–138. DOI: 10.1093/hmg/ddx240.
- [39] LI Y, MA J, YAO K, et al. Circadian rhythms and obesity: timekeeping governs lipid metabolism [J]. *J Pineal Res*, 2020, 69 (3) : e12682. DOI: 10.1111/jpi.12682.
- [40] LEIBETSEDER V, HUMPELER S, ZUCKERMANN A, et al. Time dependence of estrogen receptor expression in human hearts [J]. *Biomed Pharmacother*, 2010, 64 (3) : 154–159. DOI: 10.1016/j.biopha.2009.09.010.
- [41] KARAS R H, HODGIN J B, KWOUN M, et al. Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor beta-deficient female mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96 (26) : 15133–15136. DOI: 10.1073/pnas.96.26.15133.
- [42] 王明亮, 杨大春, 孙雄山. 昼夜节律在心血管功能和疾病调

控中的研究进展 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2021, 23 (9) : 994–996.

- [43] 马艳春, 冯天甜, 韩宇博, 等. 五味子的化学成分和药理研究进展 [J]. *中医药学报*, 2020, 48 (11) : 67–71. DOI: 10.19664/j.cnki.1002-2392.200200.
- [44] 刘颖, 胡锐, 白璐, 等. 阿胶对正常雌性小鼠雌激素样作用研究 [J]. *山东中医杂志*, 2018, 37 (8) : 681–683, 687. DOI: 10.16295/j.cnki.0257-358x.2018.08.019.
- [45] LI B, WANG L, LIU Y, et al. Jujube promotes learning and memory in a rat model by increasing estrogen levels in the blood and nitric oxide and acetylcholine levels in the brain [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5 (6) : 1755–1759. DOI: 10.3892/etm.2013.1063.

(收稿日期: 2021-11-30; 修回日期: 2022-01-17)

(本文编辑: 崔丽红)

(上接第93页)

- [11] 秦峰, 蔡辉. 他汀类药物多效性研究进展 [J]. *临床神经病学杂志*, 2017, 30 (1) : 76–78. DOI: 10.3969/j.issn.1004-1648.2017.01.027.
- [12] 郭艳霞, 王继合. 灌洗化痰活血通络方联合西药治疗风痰瘀阻证急性脑梗死63例 [J]. *环球中医药*, 2018, 11 (2) : 290–292. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1749.2018.02.041.
- [13] 刘红森, 李艳玲. 癫狂梦醒汤药理作用及临床应用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21 (19) : 230–234. DOI: 10.13422/j.cnki.syxfx.2015190230.
- [14] 林虹, 于志峰, 王志凌, 等. 加味癫狂梦醒汤对精神分裂症脑源性神经营养因子调节的研究 [J]. *中医药学报*, 2014, 29 (4) : 153–155. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2392.2014.04.063.
- [15] 韩凤丽, 于铭权. 癫狂梦醒汤对兔动脉粥样硬化血管基质金属蛋白酶9表达的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13 (15) : 1723–1725. DOI: 10.3969/j.issn.1672-1349.2015.15.009.
- [16] HAO E W, PANG G F, DU Z C, et al. Peach kernel oil downregulates expression of tissue factor and reduces atherosclerosis in ApoE knockout mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (2) : 405. DOI: 10.3390/ijms2020405.
- [17] 余刘勤, 贾爱梅, 宋永砚. 柴胡皂苷抗炎、抗氧化和降脂研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28 (1) : 87–92. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2020.01.017.
- [18] 黄植槟, 陈金水, 吴天敏, 等. 苏子油对兔颈动脉粥样硬化模型的微小RNA21和基质金属蛋白酶9基因表达的影响 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2016, 32 (15) : 1414–1417. DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2016.15.021.
- [19] 武玲, 王锋. 某院40岁以上体检人群无症状性颈动脉粥样硬化发病率及危险因素分析 [J]. *实用预防医学*, 2018, 25 (7) : 851–853. DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.07.023.
- [20] 晏子俊, 张良明, 陈彦清, 等. 脑梗死患者颈动脉粥样硬化性

斑块与hs-CRP、Apo-B、ox-LDL、MMP-9的相关性研究 [J]. *海南医学院学报*, 2019, 25 (22) : 1713–1717, 1722. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20191031.002.

- [21] 王敏, 李瑾. 炎性细胞在动脉粥样硬化中作用的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30 (3) : 265–270.
- [22] 范兰英, 胡秋延, 张琳. 炎症相关预后指标与老年急性心肌梗死患者住院结局的关系研究 [J]. *实用心脑肺血管病杂志*, 2020, 28 (11) : 23–30. DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.11.005.
- [23] 陶飞, 赵旺, 琦双五. 血小板与淋巴细胞比值、中性粒细胞与淋巴细胞比值与急性脑梗死颈动脉粥样硬化斑块的相关性研究 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20 (6) : 606–609. DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2021.06.013.
- [24] 张炎, 钱小燕, 沈芳, 等. 大动脉粥样硬化型和小动脉闭塞型脑梗死患者Lp-PLA2水平与颈动脉粥样硬化斑块的关系 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12 (10) : 1227–1230. DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2020.10.17.
- [25] 郭根心, 成宏兵. 血清脂蛋白相关磷脂酶A2联合同型半胱氨酸对老年冠心病患者下肢动脉粥样硬化疾病的诊断价值研究 [J]. *实用心脑肺血管病杂志*, 2021, 29 (1) : 15–20. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.01.004.
- [26] 卢海克, 戴颖仪, 陶青, 等. 半夏在动脉粥样硬化颈动脉内膜增生中的修复机制研究 [J]. *热带医学杂志*, 2020, 20 (10) : 1283–1287, 封4. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2020.10.007.
- [27] 朱有胜, 褚俊. 甘草昔对大鼠动脉粥样硬化的作用及机制 [J]. *广东医学*, 2015, 36 (3) : 365–368. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.2015.03.012.

(收稿日期: 2021-11-06; 修回日期: 2022-01-25)

(本文编辑: 李越娜)