

滋癸益经汤治疗卵巢早衰作用机制的网络药理学研究

杨益雯¹, 田海艳¹, 罗颂平², 赵颖²

(1. 广州中医药大学第一临床医学院, 广东广州 510405; 2. 广州中医药大学第一附属医院妇科, 广东广州 510405)

摘要:【目的】应用中药网络药理学方法探究滋癸益经汤治疗卵巢早衰的潜在作用机制。【方法】检索中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库获得滋癸益经汤组成中药的活性成分及作用靶标, 检索 GeneCards 和在线人类孟德尔遗传(OMIM)数据库得到卵巢早衰的相关靶标, 对潜在靶点进行基因本体论(GO)分子功能和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。【结果】筛选得到滋癸益经汤治疗卵巢早衰潜在作用靶点69个, 白细胞介素(IL)6、蛋白激酶B1(AKT1)、IL10、IL2、肿瘤抑制因子p53蛋白(TP53)、第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)为其主要作用靶点, 这些靶点主要通过类固醇结合、氧化还原酶活性、细胞因子活性等分子功能及磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B(PI3K/Akt)、缺氧诱导因子1(HIF-1)、叉头盒O(FoxO)、p53等信号通路对卵巢早衰产生作用。【结论】槲皮素、木犀草素、山柰酚是滋癸益经汤中治疗卵巢早衰的主要活性成分, 它们通过作用于IL6、AKT1、PTEN等靶点, 激活PI3K/Akt、HIF-1、FoxO、p53信号通路, 从而治疗卵巢早衰。滋癸益经汤治疗卵巢早衰的作用机制还可能与抗氧化应激、原始卵泡激活、细胞增殖和凋亡等途径相关。

关键词: 滋癸益经汤; 卵巢早衰; 网络药理学; 机制

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)11-2485-07

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbcm.2021.11.032

Network Pharmacological Study on Action Mechanism of *Zigui Yijing* Decoction for Premature Ovarian Failure

YANG Yi-Wen¹, TIAN Hai-Yan¹, LUO Song-Ping², ZHAO Ying²

(1. The First Clinical Medical School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China; 2. Dept. of Gynecology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To explore the potential action mechanism of *Zigui Yijing* Decoction in the treatment of premature ovarian failure (POF) by applying network pharmacology of Chinese herbal medicine. **Methods** The active components and action targets of *Zigui Yijing* Decoction were obtained by searching Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP) database, and the related targets of POF were obtained by searching GeneCards and online Human Mendelian Genetics (OMIM) databases. Gene ontology (GO) molecular function and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed for potential targets. **Results** Sixty-nine potential action targets of *Zigui Yijing* Decoction for the treatment of POF were screened out, with interleukin (IL)6, protein kinase B1 (AKT1), IL10, IL2, tumor suppressor p53 protein (TP53), chromosome 10 deletion phosphatase and tensin homolog (PTEN) as its main targets. These targets act on the disease mainly through molecular functions such as steroid binding, oxidoreductase activity, cytokine activity and signaling pathways such as phosphatidylinositol 3-kinase-protein kinase B (PI3K/Akt), hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1), forkhead box O (FoxO) and p53. **Conclusion** Quercetin, luteolin and kaempferol are the main active ingredients in *Zigui Yijing* Decoction for the treatment of

收稿日期: 2021-03-07

作者简介: 杨益雯(1995-), 女, 在读硕士研究生; E-mail: 1040825658@qq.com

通讯作者: 赵颖(1973-), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师; E-mail: drzhaoying@126.com

基金项目: 国家中医药管理局中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)岐黄学者项目(国中医药人教函[2018]284号); 全国中医学流派传承工作室建设项目(国中医药人教函[2019]62号); 全国名老中医药专家传承工作室建设项目(国中医药人教函[2018]134号); 广东省省名老中医药专家传承工作室建设项目(粤中医办函[2017]209号)

POF, which affect PI3K/Akt, HIF-1, FoxO and p53 signaling pathways by acting on target proteins such as IL6, AKT1 and PTEN, thereby treating POF. The action mechanism of *Zigui Yijing* Decoction for the treatment of POF may also be related to pathways such as anti-oxidative stress, primordial follicle activation, cell proliferation and apoptosis.

Keywords: *Zigui Yijing* Decoction; premature ovarian failure(POF); network pharmacology; mechanism

卵巢早衰(premature ovarian failure)是指女性40岁以前出现闭经、促性腺激素水平升高(FSH>40 U/L)和雌激素水平降低,并伴有潮热、盗汗、阴道干涩等围绝经期症状,是早发性卵巢功能不全(POI)的终末阶段^[1]。据统计,卵巢早衰的发病率约为1%,并呈逐年上升的趋势^[2]。目前,POI诊疗指南推荐的治疗方法主要为激素补充治疗(HRT)^[3],该法可改善患者的临床表现,但在帮助卵巢早衰患者生育方面暂无有效方法,且即使使用最接近天然的激素,也可能提高乳腺癌的发生率^[4]。卵泡体外激活虽有妊娠的案例但成功率低^[5]。其他治疗方法如免疫、干细胞、基因编辑等尚在研究阶段^[6]。相比之下,中医药治疗卵巢早衰取得了不错的疗效,且副作用小,具有一定优势。

张玉珍教授为妇科名家,是岭南罗氏妇科代表性传承人,其团队在国内以中医药防治卵巢早衰处于领先地位。她认为,卵巢早衰病机以肾虚为主,累及心、肝、脾多脏,拟定专病专方滋癸益经汤^[6]。该方由菟丝子、枸杞子、人参、淫羊藿、熟地黄、丹参、柴胡、炙甘草8味中药组成,临床与实验研究证明,该方可降低患者的促性腺激素(FSH)和促卵泡生成素(LH)的水平,提高雌二醇(E₂)和抗苗勒氏管激素(AMH)的水平,改善卵巢血供,增加子宫内膜厚度^[7-8],还可改善卵巢储备功能,可通过增强自身免疫性POI小鼠卵巢抑制素B的信使RNA表达来提高抑制素B的浓度^[7];但其主要活性成分及作用机制尚不完全明确。本研究采用中药网络药理学方法,以“网络靶向多组分”为主要研究模式,通过检索在线数据库构建“疾病-基因-靶点-药物”网络,通过数据挖掘药物对多种信号通路的调节作用预测药物活性成分、体内作用靶点、作用机制等^[9],探讨该方治疗卵巢早衰的作用机制,现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 获取滋癸益经汤活性成分及靶标 以口服生物利用度(OB)≥30%和类药性(DL)≥0.18为筛选标准,在中药系统药理学分析平台(TCMSP)数据库中对方中组成中药菟丝子、枸杞子、人参、淫羊藿、熟地黄、丹参、柴胡(TCMSP数据库中未收录炙甘草,故本研究未纳入)进行检索,获得该方活性成分,并根据活性成分查找得到对应的靶标蛋白。

1.2 搜集卵巢早衰靶标 分别通过在线文本挖掘服务器 GeneCards (<https://www.genecards.org/>) 和在线人类孟德尔遗传(OMIM)数据库(<https://omim.org/>),以“premature ovarian failure”和“POF”为关键词检索卵巢早衰的相关靶点,建立卵巢早衰疾病靶点数据集。

1.3 搜集滋癸益经汤作用于卵巢早衰的靶点 查询 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>),为该方活性成分对应靶标添加简称。利用 R 4.0.2 软件对该方活性成分作用的靶标和卵巢早衰相关的靶标取交集,获得潜在作用靶点,并绘制交集图。

1.4 构建“活性成分-作用靶点”关系网络 将滋癸益经汤的活性成分、潜在作用靶点作用关系导入 Cytoscape 3.7.2 软件,得到“活性成分-作用靶点”网络。

1.5 构建蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络 将潜在作用靶点导入 STRING(<https://string-db.org/>)数据库中,以置信度分数(Score)≥0.900(高置信度)为条件进行筛选,去除没有联系的节点,得到作用靶点蛋白之间相互作用网络,获得 PPI 网络关系图和文件。利用 R 4.0.2 软件筛选出连线最多的前 20 位的靶点,绘制柱状图。将前 10 位靶点相互作用关系导入 Cytoscape 3.7.2 软件,得到它们之间的相互作用网络。

1.6 基因富集分析 利用 David 6.8 数据库(<https://>

david.ncifcrf.gov)对潜在作用靶点进行基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析,探讨滋癸益经汤治疗卵巢早衰可能的生物学功能和主要的信号通路。本研究以 $P < 0.05$ 为筛选条件,分别选取富集结果的前 20 条 GO 生物功能和 KEGG 信号通路,利用 R 4.0.2 软件进行可视化。

1.7 构建“潜在靶标-KEGG 通路”关系网络 查阅相关文献,从 KEGG 富集的前 20 条通路中筛选可能与卵巢早衰有关的通路,将其与靶标关系文件导入 Cytoscape 3.7.2 软件,进一步得到“潜在靶点-KEGG 通路”关系网络图。

2 结果

2.1 滋癸益经汤的活性成分及其靶标 通过 TCMSP 平台,筛选得到菟丝子的活性成分有 11 种、人参 22 种、枸杞子 45 种、熟地黄 2 种、淫羊藿 23 种、柴胡 17 种、丹参 65 种。剔除重复部分后,该方得到 167 种活性成分,将其活性成分输入 TCMSP 平台检索并删除重复靶标后,得到 278 个靶标。检索 UniProt 数据库,为靶标添加简称。

2.2 卵巢早衰的靶标 按“1.2”项方法检索并删除重复靶标后,获得卵巢早衰相关的靶标 997 个。

2.3 滋癸益经汤治疗卵巢早衰的潜在靶点 按“1.3”项的方法对“2.1”项和“2.2”项的靶标取交集,得到 69 个滋癸益经汤治疗卵巢早衰的潜在作用靶点,见图 1。

2.4 “成分-靶标”网络的构建 将编排后的滋癸益经汤的 278 个活性成分、治疗卵巢早衰的 69 个潜在靶点导入 Cytoscape 3.7.2 软件可视化,获得

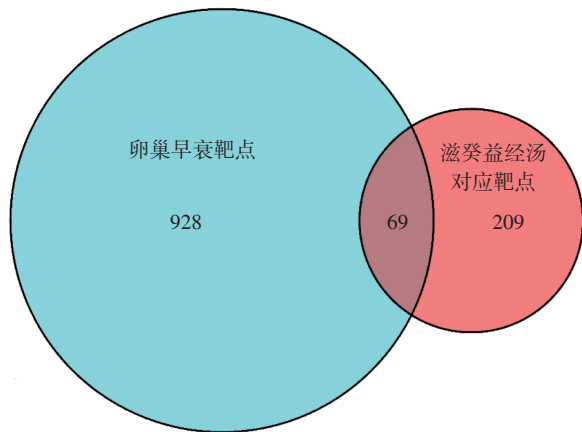


图 1 滋癸益经汤治疗卵巢早衰潜在靶点的韦恩图
Figure 1 Venn diagram of potential targets of Zigu Yijing Decoction for treatment of POA

“滋癸益经汤活性成分-卵巢早衰潜在靶点”关系网络,见图 2。其中,黄色部分代表滋癸益经汤组成中药,蓝色代表中药的活性成分,绿色部分代表卵巢早衰潜在靶点。网络中活性成分与潜在靶点连线越多,即度(Degree)值越高,与卵巢早衰治疗的相关性越大, Degree 值前 10 位的活性成分如表 1 所示。

2.5 蛋白质-蛋白质相互作用网络的构建及拓扑结构的分析 将滋癸益经汤治疗卵巢早衰的 69 个潜在靶点录入 STRING 数据库,获得蛋白质-蛋白质相互作用的关系网络图,结果如图 3。其中, AKT1、TP53、VEGFA、IL6、TNF 位于核心基因位置。结果如图 3~5。

2.6 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 利用 David 在线数据库,将 69 个潜在靶点进行 GO 和 KEGG 分析。得到 GO 分子功能富集条目 74 个。根据 P 值从小到大的顺序,选取前 20 个分析条目进行可视化,以条形的长度代表相应条目所富集基因数。结果显示,这 69 个潜在靶点的分子功能主要富集在类固醇结合、氧化还原酶活性、细胞因子活性等方面。结果如图 6 所示。

共富集 127 条 KEGG 信号通路,去除与其他器官癌症相关的通路,按照 P 值从小到大的顺序筛选前 20 条,主要包括:缺氧诱导因子 1(HIF-1)信号

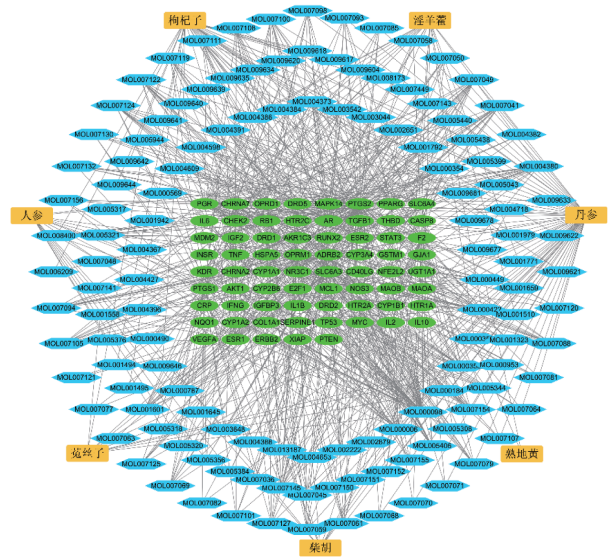


图 2 “滋癸益经汤活性成分-卵巢早衰潜在靶点”关系网络

Figure 2 Relationship network of “active ingredients of Zigu Yijing Decoction-potential targets of POA”

表1 滋癸益经汤活性成分[度(Degree)值前10位]

Table 1 Active ingredients of *Zigui Yijing* Decoction (top 10 in Degree value)

分子编号	英文名称	中文名称	度(Degree)值
MOL000098	quercetin	槲皮素	43
MOL000006	luteolin	木犀草素	19
MOL007145	salviolone	鼠尾草酚酮	16
MOL004380	C-Homoerythrinan, 1,6-didehydro-3,15,16-trimethoxy-, (3.β.)-	—	16
MOL000422	kaempferol	山柰酚	16
MOL007049	4-methylenemiltirone	4-亚甲丹参新酮	15
MOL007100	dihydrotanshinlactone	二氢丹参内酯	13
MOL007041	2-isopropyl-8-methylphenanthrene-3,4-dione	2-异丙基-8-甲基菲-3,4-二酮	13
MOL000358	beta-sitosterol	β-谷甾醇	12
MOL007122	miltirone	丹参新酮	12

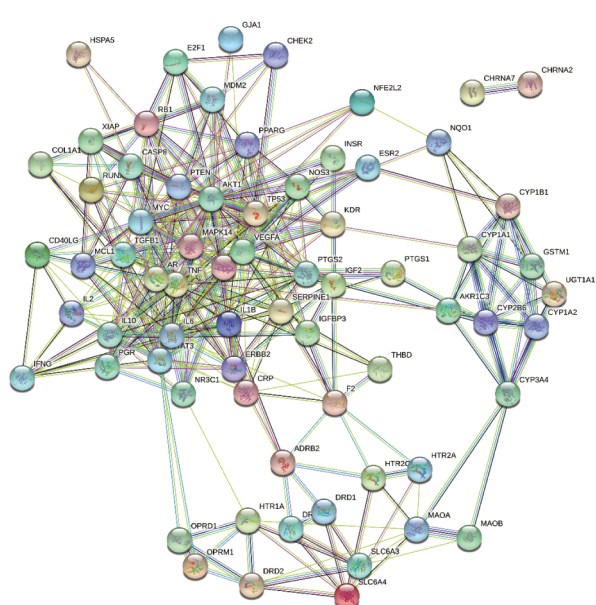


图3 滋癸益经汤治疗卵巢早衰的蛋白质-蛋白质相互作用网络

Figure 3 Protein-protein interaction network of *Zigui Yijing* Decoction in the treatment of POF

通路、叉头盒O(FoxO)信号通路、p53信号通路、磷脂酰肌醇3激酶-蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路等。结果如图7所示。

2.7 构建KEGG通路关系网络 将富集的前20条KEGG通路关系文件导入Cytoscape 3.7.2软件,构建“潜在靶点-KEGG通路”关系网络图,并计算KEGG通路和潜在靶点的Degree值。其中,橙色部分代表KEGG通路,橙色节点为通路上富集的潜在靶点,蓝色节点代表靶标参与的通路。根据KEGG关系网络,筛选出节点连接Degree值排名前20位的靶标。这些靶标是网络中连接度最大、最重要

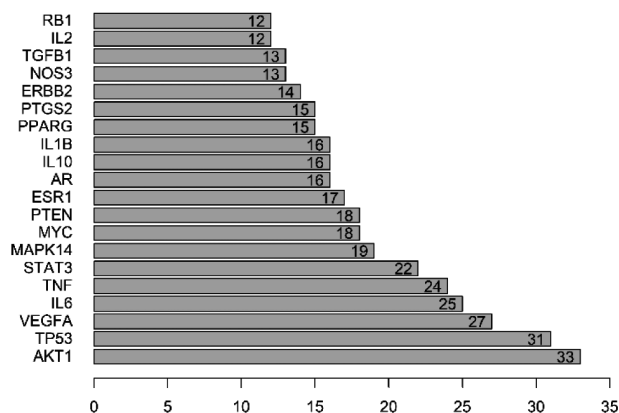


图4 度(Degree)值排名前20位的滋癸益经汤治疗卵巢早衰靶点

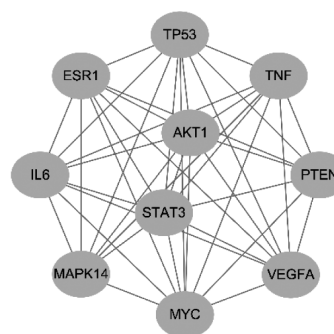
Figure 4 The top 20 targets of *Zigui Yijing* Decoction in the treatment of POF in Degree value

图5 滋癸益经汤治疗卵巢早衰前10位潜在靶标的相互作用网络图

Figure 5 Interaction network of the top 10 potential targets of *Zigui Yijing* Decoction in the treatment of POF

的靶标。其中,IL6、AKT1、TGFB1、TNF等13个靶标也是蛋白质-蛋白质相互作用网络关系网络中的核心基因。查阅相关文献,得出槲皮素、木犀

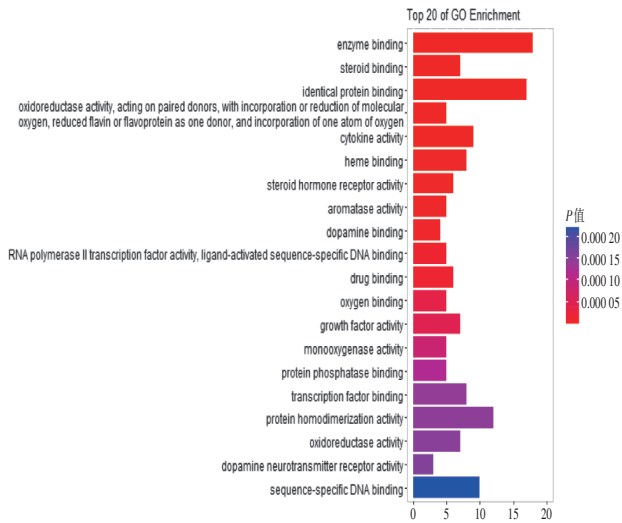


图 6 GO 分子功能富集分析结果

Figure 6 Analysis results of GO molecular function enrichment

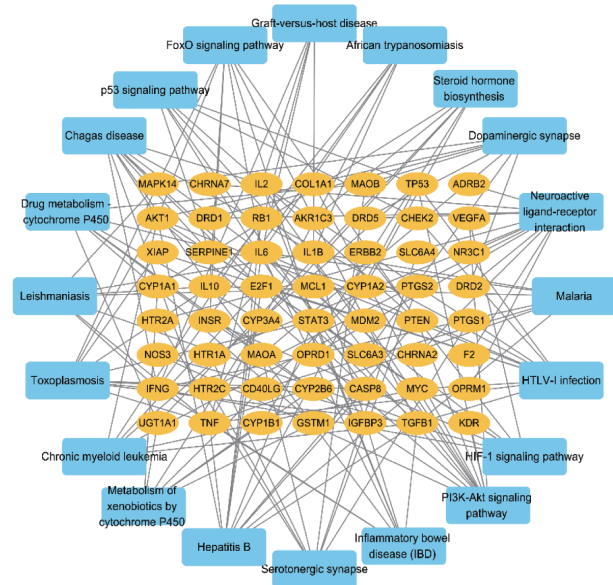


图 8 “潜在靶点-KEGG 通路” 关系网络图

Figure 8 Network diagram of “potential targets-KEGG pathways”

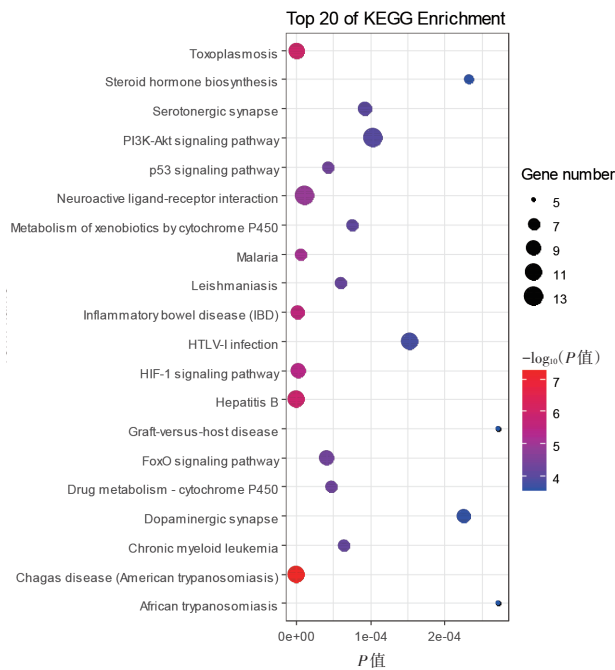


图 7 KEGG 通路富集分析结果

Figure 7 Enrichment analysis results of KEGG pathways

草素、山柰酚是治疗卵巢早衰的主要潜在活性成分。这些活性成分的核心作用靶标中, IL6、AKT、IL10、IL2、TP53、MYC、第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因 (PTEN) 这 7 个靶标同时也是 PI3K/Akt、HIF-1、p53、FoxO 这几个与卵巢早衰密切相关的信号通路中的靶点蛋白, 以此构建 “药物-活性成分-潜在靶点-KEGG 通路” 关系网络图。结果见图 8~9、表 2。

图 9 “药物-活性成分-潜在靶点-KEGG 通路” 关系网络图

Figure 9 Network diagram of “drugs-active ingredients-potential targets-KEGG pathways”

表 2 KEGG 关系网络连接度 (Degree) 值前 20 位的靶标
Table 2 The targets in the top 20 Degree values in KEGG relational network

靶标	Degree 值	靶标	Degree 值	靶标	Degree 值
IL6	10	IL2	5	PTEN	4
AKT1	9	MAPK14	5	CYP1A2	3
TGFB1	9	STAT3T	5	CYP3A4	3
TNF	9	P53	5	E2F1	3
IFNG	8	CASP8	4	INSR	3
IL10	7	MDM2	4	RB1	3
IL1B	6	MYC	4		

3 讨论

张玉珍教授认为, 卵巢早衰是因脏腑、气血、天癸、冲任、胞宫先后受病, 导致脾肾两虚、肝气郁滞、血枯瘀阻, 逐渐致天癸、冲任衰少, 血海空虚, 胞宫失于濡养而发病^[10], 治疗需补肾健脾、调肝活血, 以此创立治疗卵巢早衰的专方滋癸益经汤。方中菟丝子和人参同为君药, 养肝血填肾精, 大补脾肺之气; 枸杞子滋肝补肾, 熟地黄补血养阴, 淫羊藿温肾壮阳, 三者共为臣药; 柴胡、丹参疏肝活血为佐; 炙甘草调和诸药为使。该方效果良好, 但是其疗效机制尚不明确。本研究借助在线数据库共筛选得到滋癸益经汤活性成分167种, 药物靶点基因278个, 与疾病的交集基因69个, 筛选得到与治疗卵巢早衰有关的潜在活性成分130种, 其中, 部分化合物的有效性及作用机制已被证实。

从“药物-活性成分-潜在靶点-KEGG 通路”关系网络图中分析, 该方中菟丝子等7味中药富含的槲皮素、木犀草素、山柰酚3种生物类黄酮, 可能是该方的主要有效成分。这些生物类黄酮可直接作用于Akt。槲皮素和木犀草素还可以通过作用于白细胞介素10(IL-10)、白细胞介素2(IL-2)2种细胞因子及第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因(PTEN)间接作用于Akt。结合信号通路图和相关文献研究发现, Akt可以通过PI3K/Akt信号通路磷酸化下游靶点因子诱导血管生成来增加卵巢内血供, 从而恢复卵巢功能^[11], 故推测这可能是滋癸益经汤改善卵巢血供的作用机制。

滋癸益经汤改善卵巢早衰患者激素水平的机制较为复杂, 涉及多个有效成分和信号通路。已知HIF-1、p53、FoxO信号通路是PI3K/Akt信号通路的下游信号通路, 均由靶激酶Akt磷酸化下游靶点因子发挥作用^[12]。HIF-1信号通路负责调节氧稳态, 当HIF-1信号通路被激活时, 氧气输送增加, 消耗减少, 可在缺氧和常氧条件下不同程度地调节包括卵泡细胞在内的各种组织细胞增殖^[13]。p53信号通路是细胞衰老和凋亡中的一环, 当通路中的肿瘤抑制因子p53蛋白(TP53)因DNA损伤、低氧和癌基因激活等应激信号激活时, 细胞周期停滞, 细胞走向凋亡^[14], Akt可以通过磷酸化TP53的上游靶点抑制TP53的功能。但也有研究提出相

反结论^[15]。FoxO信号通路中FoxO3a是卵泡激活的关键调节因子, 由Akt磷酸化激活, 可抑制原始卵泡的过早及过度激活, 保持卵巢中的卵泡储备, FoxO3a功能异常的小鼠的原始卵泡在性成熟前整体激活, 从而使卵巢过早衰竭^[16]。PI3K/Akt信号通路中的PTEN也有抑制原始卵泡激活的作用, 维持卵巢中的卵泡储备^[17]。滋癸益经汤可能通过以上通路和靶点调节卵巢组织细胞增殖、抑制凋亡、抑制原始卵泡过早激活来改善卵巢早衰患者体内性激素和AMH的水平。动物实验也印证了槲皮素、木犀草素、山柰酚对FSH、LH、E2、AMH水平的正面影响以及对卵巢细胞增殖和原始卵泡情况的改善^[18-21]。

另外, 槲皮素的作用靶点MYC亦是PI3K/Akt信号通路中的下游靶点, 与细胞周期相关, 值得进一步探讨。

GO富集分析结果表明, 滋癸益经汤治疗卵巢早衰的生物学过程主要体现在氧化还原酶活性、类固醇结合、细胞因子活性上。氧化应激会使卵巢颗粒细胞的蛋白质、DNA等氧化损伤, 最终导致细胞凋亡, 故抑制氧化应激过程可以保护卵巢细胞^[22]。类固醇结合蛋白(SHBG)可以与性激素特异性结合并转运, 当其编码基因出现问题导致SHBG功能减弱时, 雄激素活性降低, 卵泡生长失调, 引起卵巢早衰^[23]。以此推断, 提高类固醇结合性或许可以改善卵巢早衰。参与卵巢早衰的细胞因子主要包括TNF- α 和INF- γ 等, 降低这些细胞因子的表达水平, 可有效抑制卵巢颗粒细胞凋亡, 从而使卵巢功能得到恢复^[24-26]。本研究GO富集分析的结果与文献报道基本一致, 据此推断, 滋癸益经汤治疗卵巢早衰涉及氧化还原酶活性、类固醇结合、细胞因子活性等多种复杂的生物过程。

综上所述, 滋癸益经汤治疗卵巢早衰的作用机制涉及多个活性成分、作用靶点及生物通路。槲皮素、木犀草素、山柰酚等是滋癸益经汤中治疗卵巢早衰的主要活性成分, 它们通过作用于IL6、AKT1、PTEN等靶标蛋白, 影响PI3K/Akt、HIF-1、FoxO、p53信号通路, 从而治疗卵巢早衰。滋癸益经汤治疗卵巢早衰的作用机制可能还与抗氧化应激、原始卵泡激活、细胞增殖和凋亡等途径相关, 需进一步通过实验验证。

参考文献:

- [1] WELT C K. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure[J]. Clin Endocrinol(Oxf), 2008, 68(4): 499-509.
- [2] TORREALDAY S, KODAMAN P, PAL L. Premature ovarian insufficiency—an update on recent advances in understanding and management[J]. F1000Res, 2017, 6: 2069.
- [3] 陈子江, 田秦杰, 乔杰, 等. 早发性卵巢功能不全的临床诊疗中国专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2017, 52(9): 577-581.
- [4] 吴洁, 陈蓉. 早发性卵巢功能不全的激素补充治疗专家共识[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(12): 881-886.
- [5] ZHAI J, YAO G D, DONG F L, et al. In vitro activation of follicles and fresh tissue auto-transplantation in primary ovarian insufficiency patients[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(11): 4405-4412.
- [6] 张玉珍, 史云. 卵巢早衰的中医药防治[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 106-110.
- [7] 陈丽霞. 滋癸活血益经汤对卵巢功能围早衰期影响的临床及实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2007.
- [8] 陈素珍, 赵颖, 张玉珍. 滋癸益经汤联合滋肾育胎丸治疗卵巢早衰的研究[J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(1): 41-45.
- [9] 苑婕, 胡静, 贺虹, 等. 网络药理学在中医药现代化研究中的进展[J]. 海南医学, 2020, 31(20): 2688-2691.
- [10] 郭哲璇, 廖慧慧, 吴咏梅, 等. 张玉珍治疗卵巢早衰用药规律探讨[J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(6): 905-910.
- [11] YANG Z L, DU X, WANG C, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived microvesicles on premature ovarian insufficiency in mice [J]. Stem Cell Res Ther, 2019, 10(1): 250.
- [12] 杨静, 梁嘉丽, 秦佳佳. PI3K/Akt信号通路与卵巢早衰相关性的研究进展[J]. 现代妇产科进展, 2016, 25(2): 156-158.
- [13] JEONGMAN P, PARK Y, Koh I, et al. Association of an APBA3 missense variant with risk of premature ovarian failure in the Korean female population [J]. J Pers Med, 2020, 10(4): 193.
- [14] LIANG L, ZHANG X H, JI B, et al. Yifuning postpones ovarian aging through antioxidant mechanisms and suppression of the Rb/p53 signal transduction pathway[J]. Mol Med Rep, 2016, 14(1): 888-896.
- [15] CHEN S S, MICHAEL A, BUTLER-MANUEL S A. Advances in the treatment of ovarian cancer: a potential role of antiinflammatory phytochemicals [J]. Discov Med, 2012, 13(68): 7-17.
- [16] CASTRILLON D H, MIAO L, KOLLIPARA RAMYA, et al. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a [J]. Science, 2003, 301(5630): 215-218.
- [17] 聂明月, 杨晓葵. 调控原始卵泡生长发育机制的研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志, 2014, 33(4): 306-309.
- [18] ELKADY M A, SHALABY S, FATHI F, et al. Effects of quercetin and rosuvastatin each alone or in combination on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in female albino mice[J]. Hum Exp Toxicol, 2019, 38(11): 1283-1295.
- [19] 黄长盛, 贺守第, 管雁丞, 等. 菟丝子黄酮和槲皮素对雷公藤多苷致卵巢早衰大鼠卵巢功能的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(6): 667-670.
- [20] 唐晓静. 党参炔苷和木犀草素对卵巢颗粒细胞激素分泌的影响及其作用机制[D]. 北京: 中央民族大学, 2015.
- [21] SANTOS J M S, LINS T L B G, BARBERINO R S, et al. Kaempferol promotes primordial follicle activation through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B signaling pathway and reduces DNA fragmentation of sheep preantral follicles cultured *in vitro* [J]. Mol Reprod Dev, 2019, 86(3): 319-329.
- [22] 李杨, 谢莉, 刘建, 等. 二仙汤对过氧化氢诱导的人卵巢颗粒细胞氧化损伤的保护作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(3): 317-322.
- [23] 程方, 赵君利, 刘丹, 等. 性激素结合球蛋白基因启动子(TAAA)n重复多态与卵巢早衰的关联性[J]. 宁夏医科大学学报, 2015, 37(5): 495-498.
- [24] 史云, 张玉珍, 廖慧慧. 卵巢功能早衰的免疫学研究及中医药治疗浅析[J]. 中医药学刊, 2004(6): 1089-1091.
- [25] LIU P, ZHANG X, HU J, et al. Dysregulated cytokine profile associated with biochemical premature ovarian insufficiency [J]. Am J Reprod Immunol Microbiol, 2020, 84(4): e13292.
- [26] 姚敏, 王芹, 潘红玲, 等. 针刺治疗卵巢早衰及对患者细胞因子TNF- α 、IFN- γ 表达水平的影响[J]. 中国针灸, 2019, 39(11): 1181-1184.

【责任编辑: 侯丽颖】