

基于网络药理学和分子对接探讨灵芝抗阿尔茨海默病作用机制研究

吴昌燕^{1,2}, 杨灵丽¹, 龚荣英¹, 田维毅¹, 梁建东^{1*}

¹贵州中医药大学, 贵州 贵阳

²黔东南民族职业技术学院, 贵州 凯里

收稿日期: 2022年12月15日; 录用日期: 2023年1月11日; 发布日期: 2023年1月18日

摘要

目的: 灵芝具有抗阿尔茨海默病(AD)的潜力, 但其作用机制尚不明确。方法: 借用TCMSP检索筛选灵芝的化学成分及靶点, 通过GeneCards数据库筛选出阿尔茨海默病的相关靶点, 运用Cytoscape 3.6.0软件构建“药物-成分-疾病-靶点”网络图, 运用String数据库构建靶点蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络图。对药物-疾病的交集靶点进行基因本体(GO)及京都基因与基因组百科全书(KEGG)的富集分析, 最后采用分子对接进行验证。结果: 获得灵芝有效成分14个, AD疾病靶点4457个, 灵芝与AD共同作用靶点22个, 共得到GO分析104个, KEGG通路60条, 主要涉及凋亡-多物种、胆碱能突触等。分子对接结果显示, 核心成分与关键靶点具有良好的结合能力。结论: 灵芝防治AD具有多成分、多靶点、多通路的特点。

关键词

灵芝, 阿尔茨海默病, 作用机制, 网络药理学, 分子对接

Study on the Mechanism of the Action of *Ganoderma lucidum* against Alzheimer's Disease Based on Network Pharmacology and Molecular Docking

Changyan Wu^{1,2}, Lingli Yang¹, Rongying Gong¹, Weiyi Tian¹, Jiandong Liang^{1*}

¹Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Guizhou

²Qiandongnan National Polytechnic, Kaili Guizhou

Received: Dec. 15th, 2022; accepted: Jan. 11th, 2023; published: Jan. 18th, 2023

*通讯作者。

文章引用: 吴昌燕, 杨灵丽, 龚荣英, 田维毅, 梁建东. 基于网络药理学和分子对接探讨灵芝抗阿尔茨海默病作用机制研究[J]. 药物资讯, 2023, 12(1): 19-28. DOI: 10.12677/pi.2023.121004

Abstract

Objective: *Ganoderma lucidum* has the potential to against Alzheimer's Disease (AD), but its mechanism is still unclear. **Methods:** TCMSP was used to search and screen the chemical components and targets of *Ganoderma lucidum*, and the relevant targets of Alzheimer's Disease were screened from the GeneCards database. The "drug component disease target" network diagram was constructed using the Cytoscape 3.6.0 software, and the target Protein-Protein Interaction (PPI) network diagram was constructed using the String database. The drug-disease intersection targets were enriched and analyzed by Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Gene and Genome (KEGG), and finally verified by molecular docking. **Results:** 14 active components of *Ganoderma lucidum*, 4457 targets for AD disease, 22 targets for interaction between *Ganoderma lucidum* and AD, 104 GO analyses and 60 KEGG pathways were obtained, mainly involving apoptosis-multi-species, cholinergic synapses, etc. Molecular docking results show that the core components have a good binding ability with key targets. **Conclusion:** *Ganoderma lucidum* has the characteristics of multi-components, multi-targets and multi-pathways in the prevention and treatment of AD.

Keywords

Ganoderma lucidum, Alzheimer's Disease, Mechanism of Action, Network Pharmacology, Molecular Docking

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

阿尔茨海默病(Alzheimer's Disease, AD)是一种以隐匿起病和进行性认知损害为特征的中枢神经系统退行性病[1],是最常见的痴呆类型, 占有痴呆的 60%~80%, 在老年人致死原因中居于第 5 位[2]。目前,我国 AD 患者已经超过 600 万人,据预测,到 2050 年我国 AD 患者将超过 2000 万,是世界上 AD 患病人口最多、增长速度最快的国家,给患者、家庭、社会和医疗均造成沉重负担[3]。AD 因目前仍未明确,多数学者认为中枢神经胆碱能神经受损是其发病的主要原因[4]。目前尚无逆转或根治 AD 的特效药物,且药物治疗可能会带来一定的不良反应[5],因此,寻求新的治疗靶点和药物显得日益重要。

灵芝是指隶属于担子菌门(*Basidiomycota*)伞菌(*Agaricomycetes*)多孔菌目(*Polyporales*)灵芝科(*Ganodermataceae*)寄生于腐木中的灵芝属(*Ganoderma*)真菌[6]。灵芝有独特的疗效,作为药用在我国已有 2000 多年的历史,《神农本草经》记载,灵芝能够补中、益气、益精气,长期食用轻身不老、延年益寿。现代科学研究发现,灵芝主要化学成分包括三萜、多糖、甾醇、生物碱、核苷酸、类固醇等[7],灵芝及灵芝制品具有抗氧化、抗肿瘤、保肝护肝、降血糖、治疗神经衰弱等药理作用[8],同时能提高老年免疫功能,对抗氧化应激所致的组织损伤,抑制 AD 的产生和发展[9],其代谢产物灵芝多糖能显著改善 AD 大鼠的学习记忆功能以及认知功能[10]。

2. 材料与方法

2.1. 灵芝有效成分及靶点的筛选

选择中药系统药理学数据库与分析平台 TCMSP (Traditional Chinese Medicine Database and Analysis

Platform), 获取灵芝的有效成分和相应的靶点, 以“灵芝”为关键词搜索, 以口服生物利用度(Oral Bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 及药物相似度(Drug-Likeness, DL) ≥ 0.18 作为筛选条件, 获得灵芝的有效成分, 筛选灵芝的活性成分, 并应用蛋白质序列和功能信息资源数据库 Uniprot 将有效成分的靶点与基因名进行匹配, 删除重复值, 得到灵芝的靶点, 把数据上传至 Cytoscape 3.6.0 软件绘制有效成分-靶点网络图。

2.2. 筛选和建立疾病靶点

以“Alzheimer’s Disease”作为检索词, 在 GeneCards 数据库进行关键词检索, 将数据库所获得的靶标删除重复项后得到阿尔茨海默病的疾病靶标, 把检索到疾病靶标与灵芝有效成分靶标共同导入 Venny 2.1 中, 取两者交集并绘制韦恩图。

2.3. 药物-成分-靶标网络的构建

将灵芝与阿尔茨海默病相交靶点提交到 String 数据库中, 同时设定生物种类为“Homo Sapiens”进行 PPI 分析, 设置最低置信度为 0.9, 同时勾选隐藏游离的点, 构建 PPI 网络。将 PPI 网络图下载 TSV 格式并上传至 Cytoscape 3.6.0 软件中, 应用“Network Analyzer”插件进行分析, 筛选灵芝抗阿尔茨海默病作用的核心靶点。

2.4. GO 富集分析与 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID 数据库进行 GO 生物功能分析, 将阿尔茨海默病-灵芝共有靶点通过 DAVID 数据库中进行基因本体论(GO)生物过程富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路分析, 结果用气泡图显示。

2.5. 药物核心成分与核心靶点的分子对接

将 Cytoscape 3.6.0 软件中筛选出的 Degree 值排名前三位的靶点 CASP3 (ID: 1rhj)、PTGS2 (ID: 5f19)、JUN (ID: 1jnm)作为对接受体, 度值前 3 的有效成分作为配体, 下载于 RCSB PDB 数据库, 化合物通过 TCMSP、Pub Chem 进行下载, 并使用 Chem 3D 进行能量最小化, 启动运行 SYBYL-X 2.0 软件模块中的“Dock Ligand”模块对 CASP3、PTGS2 和 JUN 的晶体结构进行对接进行加氢处理、修复侧链、并选择自动寻找活性位点等。

3. 结果

3.1. 筛选药物活性成分

利用 TCMSP 数据库, 把口服生物利用度 $\geq 30\%$ 且药物相似度 ≥ 0.18 作为筛选条件, 筛选出灵芝化学成分 242 个以及 14 个具有靶点的活性成分, 如丹芝酸 E (MOL011256)等, 潜在靶点共 43 个, 具体见表 1。

Table 1. Active components and target number of *Ganoderma lucidum*

表 1. 灵芝活性成分及靶标数

MOL ID	Chemical Components	靶点数
MOL011129	methyl (4R)-4-[(5R, 10S, 13R, 14R, 17R)-4, 4, 10, 13, 14-pentamethyl-3, 7, 11, 15-tetraoxo-2, 5, 6, 12, 16, 17-hexahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl] pentanoate	1
MOL011137	campesta-7, 22E-dien-3beta-ol	3
MOL011140	5alpha-Lanosta-7, 9(11), 24-triene-15alpha, 26-dihydroxy-3-one	1
MOL011159	ergosta-4, 6, 8(14), 22-tetraene-3-one	1
MOL011168	ergosta-7, 9(11), 22-trien-3beta, 5a, 6a-triol	1

Continued

MOL011171	ganoderal B	2
MOL011256	ganolucidic acid E	1
MOL011267	Lucialdehyde B	1
MOL011270	(4R)-4-[(5R, 7S, 10S, 13R, 14R, 17R)-7-hydroxy-3, 11, 15-triketo-4, 4, 10, 13, 14-pentamethyl-1, 2, 5, 6, 7, 12, 16, 17-octahydrocyclopenta[a]phenanthren-17-yl]valeric acid	1
MOL011287	lucidone A	2
MOL011309	methyl (4R)-4-[(5R, 7S, 10S, 13R, 14R, 15S, 17R)-7, 15-dihydroxy-4, 4, 10, 13, 14-pentamethyl-3, 11-dioxo-2, 5, 6, 7, 12, 15, 16, 17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl]pentanoate	1
MOL000279	Cerevisterol	1
MOL000282	ergosta-7, 22E-dien-3beta-ol	1
MOL000358	beta-sitosterol	26

3.2. 筛选疾病和药物相关靶点

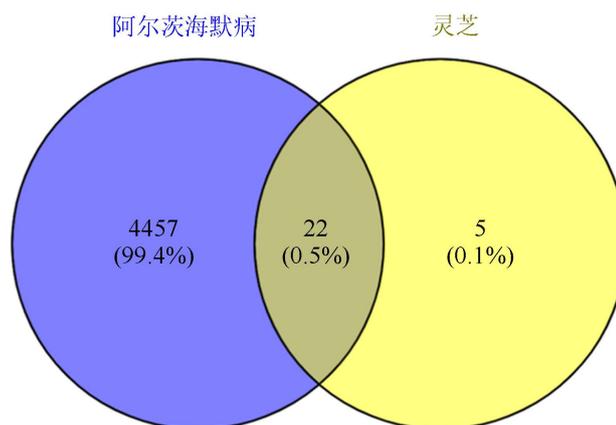


Figure 1. Wayne diagram of pharmaceutical active components and disease targets
图 1. 药物活性成分与疾病靶点韦恩图

以“Alzheimer’s Disease”作为检索词，在 GeneCards 数据库进行关键词检索，共获得与阿尔茨海默病相关靶点基因 4457 个，利用 Veeny 2.1.0 作图，见图 1，黄色代表灵芝有效成分的作用靶点(5 个)，蓝色代表疾病 AD 的作用靶点(4457 个)，中间重合部分为灵芝有效成分与 AD 的交集靶点(22 个)。

3.3. 灵芝有效成分与 AD PPI 网络的构建以及主要靶点的筛选

将灵芝与 AD 的 22 个交集靶点提交到 String 数据库，构建 PPI 网络并进行 PPI 分析，得到 PPI 互作网络，见图 2，结果显示，网络共包含 22 个节点，44 条边，平均节点度值为 4，其中，22 个节点代表 22 个蛋白质，44 条边代表蛋白质之间有 44 个关联信息，平均节点度值为 4，代表有效成分靶点 - 疾病靶点网络中的每个节点平均相连 4 条边(见图 2)。将 PPI 网络图下载 TSV 格式并上传至 Cytoscape 3.6.0 软件中，运用 Cytoscape 3.6.0 选项中“网络分析仪”对共有靶点的程度、中间中心性和接近中心性分析，结果发现，JUN (程度 = 8)、PTGS2 (程度 = 8)、CASP3 (程度 = 9)和 CHRM1 (程度 = 6)等综合排名比较靠前，如图 3 所示，这提示这些靶点对灵芝治疗阿尔茨海默病具有重要的影响。

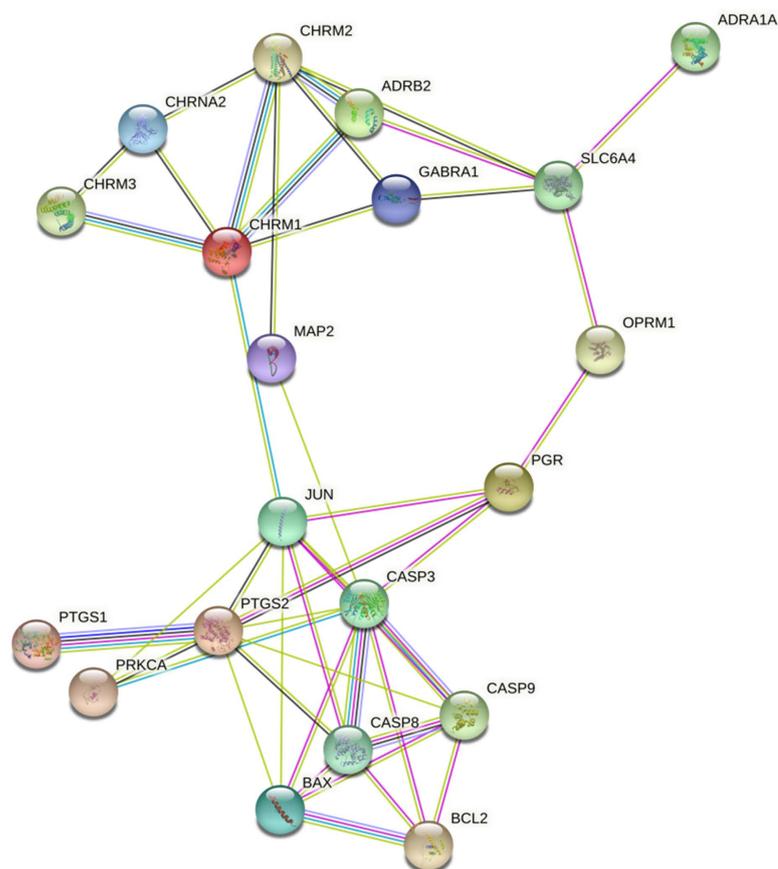


Figure 2. Network diagram of *Ganoderma lucidum* active component-AD disease target PPI
图 2. 灵芝活性成分-AD 疾病靶点 PPI 网络图

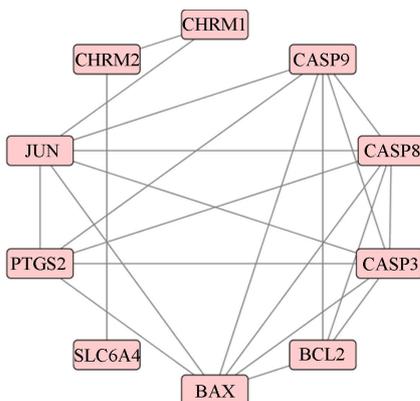


Figure 3. Protein interaction diagram of top ten targets
图 3. 前十靶点蛋白互作图

3.4. GO 生物学功能的富集分析

运用 DAVID 数据库对灵芝成分-AD 靶点进行 GO 分析, 获得 104 条 GO 生物学富集结果, 排名前 5 的富集过程有: 腺苷酸环化酶抑制 G 蛋白偶联乙酰胆碱受体信号通路、脂多糖反应、上皮细胞凋亡过程、外源物刺激反应、雌二醇反应。前 20 条富集以气泡图(见图 4)的形式展示, 这说明灵芝在阿尔茨海默病治疗过程中可能通过对上述生物过程的调控来起到一定作用。

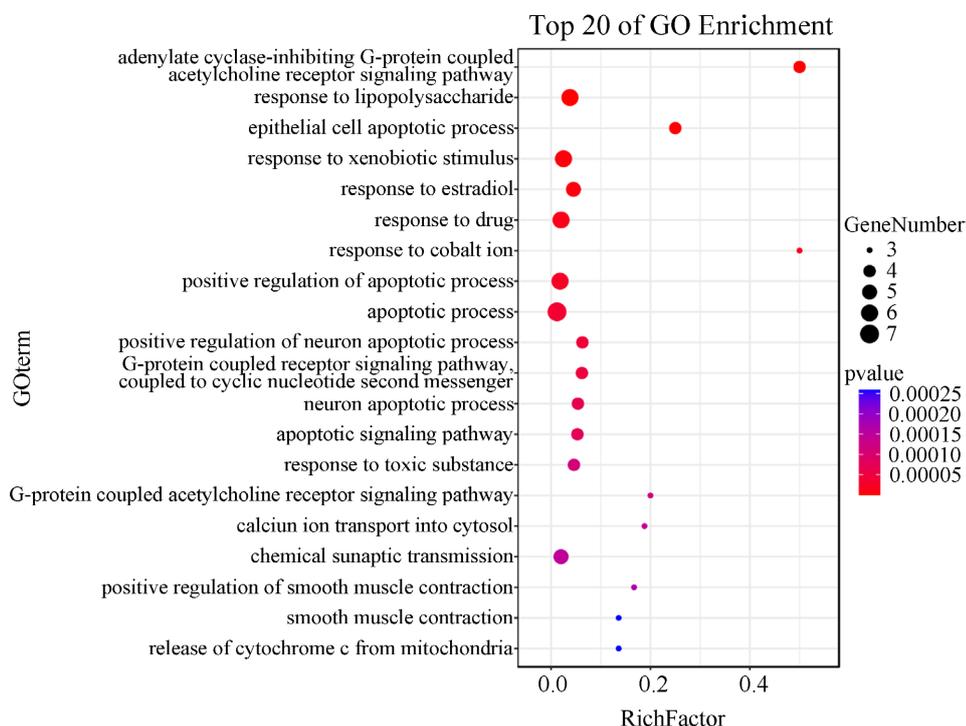


Figure 4. Bubble chart of *Ganoderma lucidum*-AD target enrichment results (GO analysis)
图 4. 灵芝-AD 靶点富集结果气泡图(GO 分析)

3.5. KEGG 通路分析

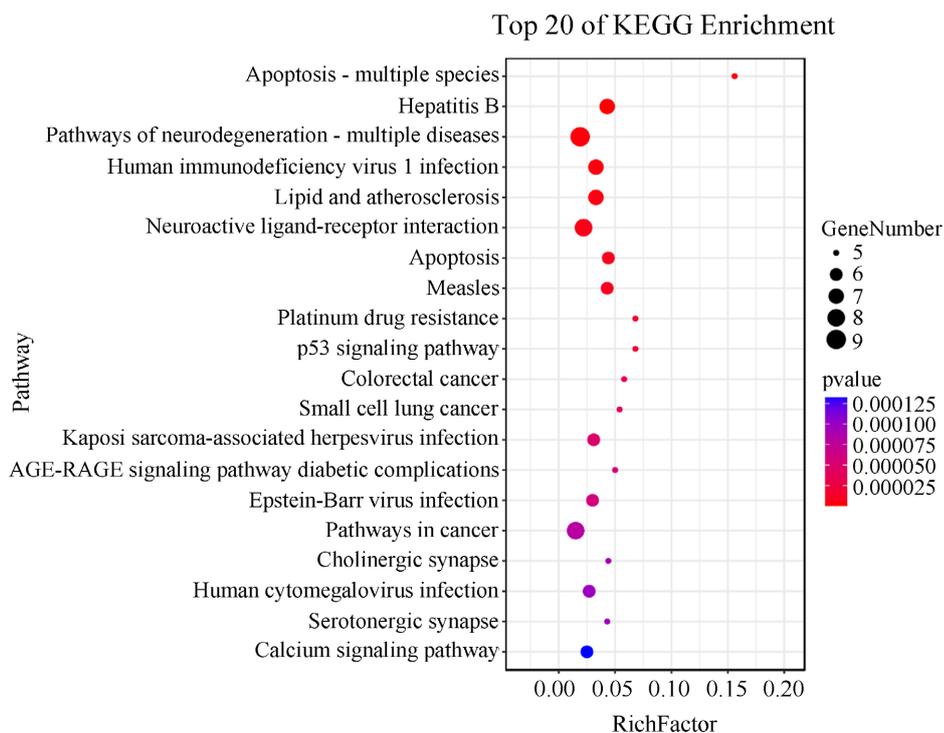


Figure 5. Bubble chart of *Ganoderma lucidum*-AD target enrichment results (KEGG)
图 5. 灵芝-AD 靶点富集结果气泡图(KEGG)

将灵芝和 AD 共有的 22 个靶点上传至 DAVID 平台, 把物种定义为“human”, 开展 KEGG 富集通路分析, 获得 60 条信号通路, 选取关系最密切的前 20 条通路展示, 前 20 条信号通路有: 凋亡 - 多物种、乙型肝炎、神经变性的途径 - 多种疾病人类免疫缺陷病毒 1 感染、人类免疫缺陷病毒 1 型感染、脂质和动脉粥样硬化、神经活性配体 - 受体作用、凋亡、麻疹、铂耐药性、p53 信号通路、直肠癌、小细胞肺癌、卡波西氏肉瘤相关疱疹病毒感染、AGE-RAGE 信号通路、病毒感染、癌症信号通路、胆碱能突触、人类巨细胞病毒感染、羟色胺能突触、钙离子通路, 这些通路于灵芝对阿尔茨海默病作用机制有密切关系(见图 5)。通过 Cytoscape 3.6.0 软件对灵芝的活性成分靶点与 AD 共有靶点利用网络进行可视化分析(见图 6), 通过对药物 - 成分 - 靶点网络图的构建, 可以更加直观、清晰地看到各成分对应的靶点调控情况。

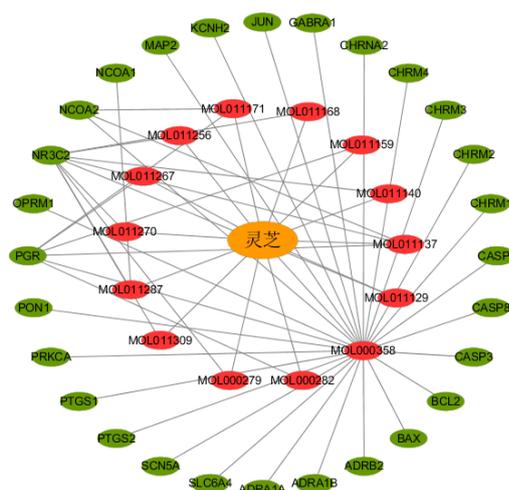


Figure 6. Network diagram of *Ganoderma lucidum* active component-target-biological pathway
图 6. 灵芝活性成分 - 靶点 - 生物通路网络图

3.6. 分子对接结果

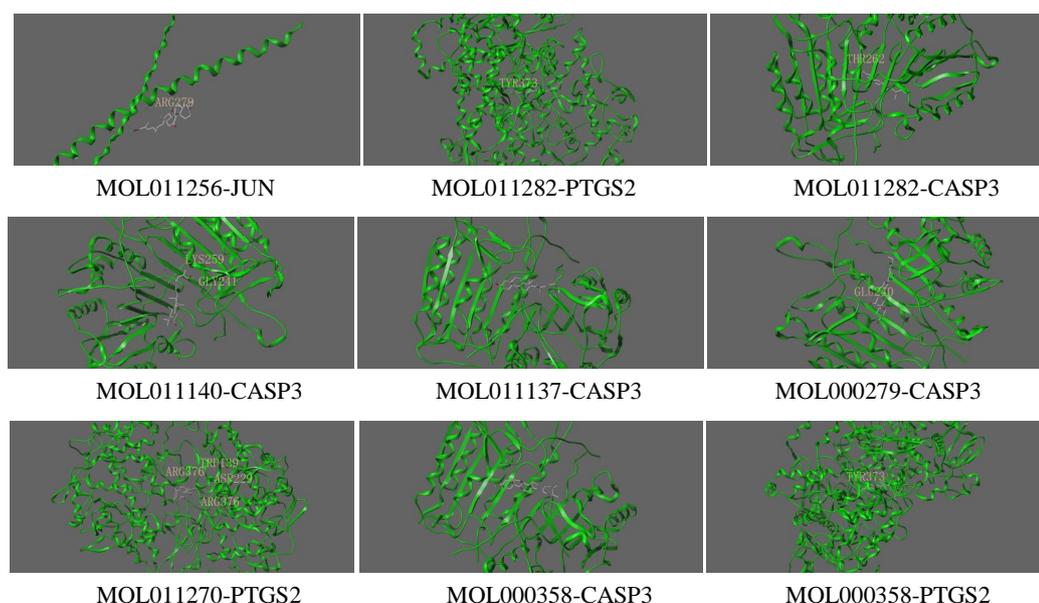


Figure 7. Visualization of molecular docking
图 7. 分子对接可视化

选取灵芝跟阿尔茨海默病共同靶点中综合排名靠前的关键靶点(CASP3、PTGS2 和 JUN)开展分子对接, 将关键靶点分别与灵芝活性成分进行分子对接验证, 选取对接结果比较好的化学成分, 筛选条件为总打分值(Total Score) ≥ 5 [11] [12], 总打分值越高表示结合较为稳定。灵芝相关活性成分包括 ganoderol B (灵芝醇 B)、ganolucidic acid E (赤灵芝酸 E)、beta-sitosterol (植物甾醇)。最后, 直观地展示了对接结果比较理想的化学成分及蛋白晶体, 结果见图 7。与成分分子的关键靶标相结, 氨基酸残明显, 氢键以虚线显示, 各化合物的对接得分见图 8。研究发现, 植物甾醇和其他三个化合物可能在抗阿尔茨海默病中发挥着重要作用。

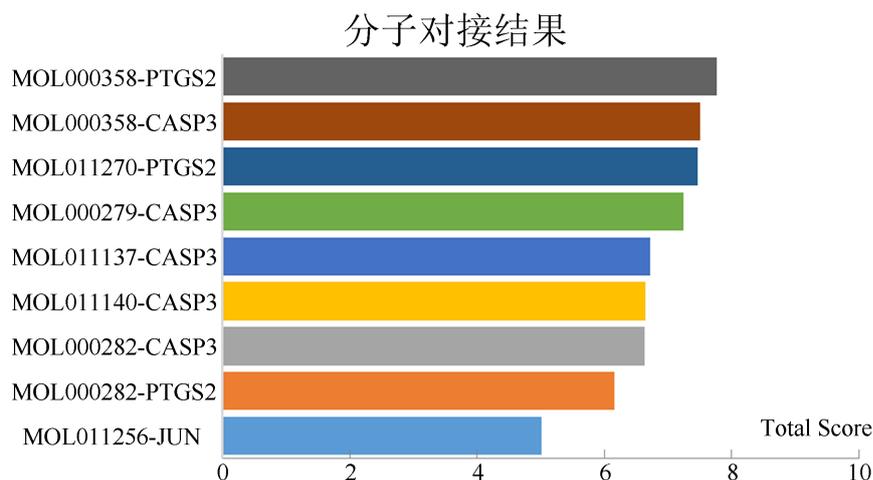


Figure 8. Molecular docking results

图 8. 分子对接结果

4. 讨论与总结

近年来, 网络药理学已被广泛应用于中医药领域, 成为中医药学研究新技术和新方法[13]。网络药理学将系统生物学、药理学、信息网络学和计算机科学相互交融在一起[14], 基于药物与疾病间相互作用的整体性和系统性, 把传统研究“一个成分对一个靶点”转变为将化学成分-靶点-疾病组成包含多个体、多层次相互作用的复杂网络, 这种“多成分-多靶点-多途径”模式更加符合中医药辨证论治的整体思路[15] [16]。

阿尔茨海默病属于中医的“痴呆”、“痴证”、“呆病”等范畴[17] [18]。中医认为, 脑为髓之海; 肾为先天之本, 肾主藏精, 主骨生髓。滋养脑髓需依赖肾之精气, 肾精充盛, 则髓海得以充养, 脑神得健[19]。中医认为, AD 的病位在脑, 与心、肝、脾、肾功能失调密切相关, 其中尤以心肾两脏最为重要, 灵芝性平味甘, 归心、肺、肝、肾经。AD 的发病机制异常复杂, 目前, 主要存在 $A\beta$ 聚集假说、Tau 蛋白异常假说、胆碱能假说、神经炎症及代谢障碍及血管损伤等[20]。临床上治疗 AD 的方法有药物治疗(如美金刚、多奈哌齐、喹硫平等)、干细胞治疗、物理治疗等, 上述治疗方法均不能根治 AD, 因此有效防治 AD 的方法有待研究发现[21]。由于阿尔茨海默病是一种不可逆的中枢神经系统退行性病变, 因此 AD 的防治较 AD 的治疗更重要。近年来, 中医药在改善 AD 症状方面取得了一些进展, 越来越多学者开始深入研究中医药在 AD 治疗中的机制[22]。

灵芝是一种具有食用和药用价值的真菌, 其主要活性成分灵芝多糖是一种重要的天然免疫调节剂, 具有多种抗炎和免疫调节作用[23]。灵芝多糖能抑制 AD 学习记忆障碍模型大鼠脑中海马 IL-6 的表达, 改善 AD 大鼠的学习记忆能力[24] [25] [26]。研究发现, 高剂量的灵芝水煎剂可明显改善 AD 症状, 研究

表明, 灵芝能明显提高小鼠大脑中 5-羟色胺和多巴胺的神经递质的含量, 从而增强小鼠的学习记忆能力[27]。此外, 研究发现, 灵芝三萜可减轻 $A\beta$ 的神经毒性以及减少脑内 $A\beta$ 沉积, 进一步证实灵芝有防治 AD 的作用[28]。童晓云等[29]研究发现, 灵芝益寿丸能有效改善 AD 患者的认知功能障碍, 改善患者生活质量。这些研究表明, 灵芝防治 AD 有多成分、多途径、多层次的特点。

本研究从网络药理学角度系统分析了灵芝防治 AD 的分子机制, 通过筛选获得 14 个活性成分、22 个潜在作用靶点和 60 条信号通路, 提示灵芝可能是通过灵芝醇 B、赤灵芝酸 E、植物甾醇等多种活性成分调节 JUN、PTGS2、CASP3 等靶点改善细胞凋亡、氧化应激反应等, 干预 AD 的发生和发展。胆碱能神经元是维持神经功能的重要细胞, 在 AD 患者中胆碱能神经元严重缺失, 因此胆碱能神经元是治疗老年痴呆的一个靶点[30], 有研究发现, 灵芝醇提取可能是通过作用于中枢胆碱能系统来改善记忆障碍模型动物的学习记忆能力[31]。PTGS2 花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶, 参与炎症反应, 在阿尔茨海默病的发生进展中发挥重要作用[32] [33]。CASP3 为细胞凋亡途径中最关键的酶, 能诱导细胞 DNA 裂解, 从而促进细胞凋亡, 当细胞发生凋亡时, CASP3 活化形成 Cleaved Caspase-3, 大量研究证实 CASP3 的活化可诱导 AD 神经元凋亡, 抑制 CASP3 的活化则可改善 AD 病理[34]。

综上, 本论文采用网络分析、分子对接和文献研究相结合的方法, 对灵芝化学成分、作用靶点及相关信号通路进行探索性研究, 揭示灵芝可能通过抗炎与抗凋亡、保护突触及调节神经递质、抗氧化作用等方式起到防治 AD 的作用, 为后续灵芝抗 AD 试验研究奠定了部分理论基础。

基金项目

贵州省科技基金项目(黔科合基础[2020] 1Y391); 贵州省科技创新人才团队(黔科合平台人才[2020] 5010); 贵州省高层次创新型人才项目(黔科合平台人才[2020] 6005); 贵州省发改委工程研究中心建设项目(黔发改高技[2020] 896)。

参考文献

- [1] 夏玲, 郭盛, 钱大玮, 等. 基于网络药理学和分子对接技术研究八珍益智方治疗阿尔茨海默病的潜在作用机制[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(6): 876-881.
- [2] 周源源. 阿尔茨海默病的流行病学、发病危险因素、治疗及早期筛查研究进展[J]. 内科, 2019, 14(6): 690-692.
- [3] Suresh, J., Khor, I.W., Kaur, P., et al. (2020) Shared Signaling Path-Ways in Alzheimer New Treatment Approaches. *FEBS Journal*, **288**, 3855-3873.
- [4] 胡勇军, 徐艳丽. 补肾祛痰化痰健脑汤联合多奈哌齐治疗阿尔茨海默病的疗效观察[J]. 中国中医药科技, 2022, 29(5): 848-850.
- [5] 汪霄荣, 陈颖, 徐冬艳, 等. 阿尔茨海默病认知损害的非药物治疗研究进展[J]. 中国临床神经科学, 2022, 30(4): 436-441.
- [6] Du, Z., Dong, C.H., Wang, K. and Yao, Y.J. (2019) Classification, Biological Characteristics and Cultivations of *Ganoderma*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1181**, 15-58. https://doi.org/10.1007/978-981-13-9867-4_2
- [7] Yang, Y., Zhang, H., Zuo, J., et al. (2019) Advances in Research on the Active Constituents and Physiological Effects of *Ganoderma lucidum*. *Biomedical Dermatology*, **3**, Article No. 6. <https://doi.org/10.1186/s41702-019-0044-0>
- [8] 张瑞婷, 周涛, 宋潇潇, 等. 灵芝活性成分及其药理作用的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(3): 18-19+22.
- [9] 林志彬. 灵芝的抗衰老与抗阿尔茨海默病的药理研究进展[J]. 神经药理报, 2018, 8(1): 9-15.
- [10] 侯欣微, 金梦茹, 王凤月, 胡帅悦, 秦丽红. 灵芝多糖对 AD 模型大鼠认知障碍的影响[J]. 黑龙江医药科学, 2019, 42(6): 35-37.
- [11] 樊启猛, 杨岩涛, 肖美凤, 等. 基于分子对接技术的补阳还五汤成分与缺血性脑卒中靶点的相互作用研究[J]. 中草药, 2019, 50(17): 4200-4208.
- [12] 任艳, 邓燕君, 马焱彬, 等. 网络药理学在中药领域的研究进展及面临的挑战[J]. 中草药, 2020, 51(18):

4789-4797.

- [13] Li, S. (2016) Exploring Traditional Chinese Medicine by a Novel Therapeutic Concept of Network Target. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, **22**, 647-652. <https://doi.org/10.1007/s11655-016-2499-9>
- [14] 徐靖, 赵建霞, 张国亮, 王瑛, 郑化先, 李明焱, 李振皓. 基于网络药理学的灵芝作用机制研究[J]. 浙江农业科学, 2022, 63(8): 1837-1846.
- [15] 王梁凤, 李慧婷, 王堯, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨生脉注射液抗新型冠状病毒肺炎的作用机制[J]. 中草药, 2020, 51(11): 2977-2987.
- [16] 王哲义, 孙恽泽, 曲稔栋, 等. 基于网络药理学的麻杏石甘汤治疗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)作用机制探讨[J]. 中草药, 2020, 51(8): 1996-2003.
- [17] 吴勉华, 王新月. 全国高等中医院校规划教材: 中医内科学[M]. 第9版. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
- [18] 林昭庚. 中西医病名对照大典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012.
- [19] 邓敏贞, 黄丽平, 秦劲晨. 阿尔兹海默病中医药防治的新靶点: 细胞自噬[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(3): 567-569.
- [20] 王其琼, 吕俊玲, 胡咏川, 刘蕾. 阿尔茨海默病致病机制及治疗药物研究新进展[J]. 中国药理学杂志, 2020, 55(23): 1939-1947.
- [21] 米日妮萨·凯才尔, 闫楚涵, 郭慧芳, 赵朝华. 阿尔茨海默病的发病机制及相关研究进展[J]. 解剖学研究, 2021, 43(3): 276-281.
- [22] 冯丽旋, 郭鹏飞, 周丽桂, 等. 佛手散治疗阿尔茨海默病分子机制的系统药理学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(11): 1622-1631.
- [23] 谢怡琼, 王琪瑞, 孙思雅, 来梦茹, 程汝滨, 邱晓华. 灵芝的药理作用和临床应用研究进展[J]. 临床医学研究与实践, 2020, 5(10): 191-193.
- [24] 汪保华, 袁华, 吕志华, 等. 灵芝多糖对模拟 AD 学习记忆障碍大鼠海马白介素-6 表达的影响[J]. 卒中与神经疾病, 2007(4): 206-209+213.
- [25] 郭燕君, 李平, 袁华. 灵芝多糖对阿尔茨海默病大鼠学习记忆影响及与海马细胞凋亡的关系[J]. 解剖学杂志, 2008(3): 376-378+393.
- [26] 晏涛, 陈世保, 徐蕾, 等. 灵芝多糖对阿尔茨海默病大鼠学习记忆和氧化应激的影响[J]. 陕西医学杂志, 2011, 40(4): 387-389+425.
- [27] 邵邻相, 徐丽珊, 王丹. 灵芝对小鼠学习记忆和单胺类神经递质的影响[J]. 时珍国医国药, 2002, 13(2): 68-69.
- [28] 张玥, 罗俊, 黄能慧, 张小毅. 灵芝三萜类化合物对 AD 大鼠脑海马神经细胞 $A\beta_{(1-40)}$ 的影响[J]. 贵州医药, 2016, 40(7): 681-682.
- [29] 童晓云, 李晓, 和春芳, 陈文玲, 吴玉涛, 李炜. 灵芝益寿丸治疗阿尔茨海默病临床观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(11): 87-89.
- [30] Ferreira-Vieira, T.H., et al. (2016) Alzheimer's Disease: Targeting the Cholinergic System. *Current Neuropharmacology*, **14**, 101-115. <https://doi.org/10.2174/1570159X13666150716165726>
- [31] 曾瑾, 罗霞, 郑林用, 等. 灵芝醇提物对记忆障碍模型小鼠学习记忆的影响[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(4): 42-44.
- [32] Tyagi, A., Karal, M.A. and Poddar, N.K. (2020) Integrated Pathways of COX-2 and mTOR: Roles in Cell Sensing and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Neuroscience*, **14**, Article No. 693. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00693>
- [33] Cheng, X.R., Cui, X.L., Zheng, Y., et al. (2013) Nodes and Biological Processes Identified on the Basis of Network Analysis in the Brain of the Senescence Accelerated Mice as an Alzheimer's Disease Animal Model. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **5**, Article No. 65. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00065>
- [34] 田梦杰, 龙清华, 曾楚华, 刘道忠, 王平, 袁林. 基于网络药理学研究大补元煎防治 AD 的作用机制及 AMPK/SIRT1 信号通路验证[J]. 中国免疫学杂志: 1-20.