乳腺熏洗方促进非哺乳期乳腺炎术后创面愈合网络药理学分析及临床验证

周悦[1]，王铮[2]，叶媚娜[1]，吴晶晶[1]，何斌俊[1]，陈红凤[1]

1. 上海中医药大学附属龙华医院，上海 200032；2. 上海交通大学医学院附属瑞金医院，上海 200025

［摘要］**目的：**采用网络药理学方法分析乳腺熏洗方促进非哺乳期乳腺炎（NPM）术后创面愈合的机制，并通过临床研究对关键通路进行验证。**方法：**利用中药系统药理学数据库与分析平台（TCMSP）检索并筛选乳腺熏洗方的主要化合物成分和作用靶点，在人类基因综合分析数据库（Genecards）中查找与乳房创面愈合相关的共同靶点，将共同靶点输入STRING数据库，获得蛋白质相互作用（PPI）网络，再使用Cytoscape 3.10.10软件绘制PPI网络图。利用DAVID数据库和Metascap数据库对疾病-药物潜在靶点进行基因本体（GO）功能富集分析及京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析。采用蛋白质印迹法检测4例NPM术后患者治疗前后创面组织血管内皮生长因子（VEGF）、信号转导和转录激活蛋白3（STAT3）蛋白表达水平。**结果：**乳腺熏洗方促进乳房创面愈合共涉及101个靶点，关键靶点有基质金属蛋白酶（MMP2、MMP9）、细胞因子[白细胞介素（IL）-1β、IL-6、表皮生长因子受体（EGFR）、转化生长因子-β（TGF-β）、肿瘤坏死因子（TNF）、成纤维细胞生长因子2（FGF-2）]、黏附分子（ICAM-1）和信号转导蛋白（STAT3、MAPK）等，参与了包括VEGF、缺氧诱导因子-1（HIF-1）、IL-17、AGE-RAGE、TNF等信号通路的调控。治疗后，NPM术后创面组织的VEGF、STAT3蛋白表达水平均较治疗前升高（$P<0.05$）。**结论：**乳腺熏洗方通过多途径、多靶点的协同调节，在促进NPM术后创面愈合方面具有明确作用。

［关键词］非哺乳期乳腺炎；创面愈合；乳腺熏洗方；中药熏洗疗法；网络药理学；信号通路；临床验证
［中图分类号］R655.8　［文献标志码］A　［文章编号］0256-7415（2024）06-0186-09
DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2024.06.034

Network Pharmacology Study on Mechanism of Ruxian Xunxi Prescription in Treating Postoperative Wound Healing After Non-Puerperal Mastitis Surgery and Clinical Verification

ZHOU Yue[1], *WANG Zheng*[2], *YE Meina*[1], *WU Jingjing*[1], *HE Binjun*[1], *CHEN Hongfeng*[1]

1. Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China; 2. Ruijin Hospital Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

Abstract: Objective: To explore action mechanism of Ruxian Xunxi Prescription (a prescription for fumigation and washing on breast) in treating postoperative wound healing after non-puerperal mastitis (NPM) surgery using network pharmacology, and verify key signaling pathways through clinical research. **Methods:** The key compound components and action targets of Ruxian Xunxi Prescription were searched in the Traditional Chinese Medicines Systems Pharmacology Platform (TCMSP). Common targets associated with breast wound healing were identified in the Human Gene Database (Genecards), which were entered

［收稿日期］2023-08-29
［修回日期］2023-12-12
［基金项目］上海市闵行区卫健委“龙华医院-闵行”中医外科乳腺专科联盟项目（LM05）；龙华医院“科技创新培育计划”项目（PY2022016）
［作者简介］周悦（1990-），女，主治医师，E-mail：lotus513870346@126.com。
［通信作者］陈红凤（1964-），女，主任医师，E-mail：chhfluk@126.com。

into STRING database to obtain the protein–protein interaction (PPI) networks，and the PPI networks were then mapped via Cytoscape 3.10.10 software. Gene ontology (GO) function enrichment analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed for potential disease – medicine targets through DAVID and Metascap databases. The protein expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3) were detected by Western Blot in four patients after NPM surgery. **Results**：There were 101 targets involved in promoting wound healing with Ruxian Xunxi Prescription，among which the key targets were mainly divided into matrix metalloproteinases (MMP2，MMP9)，cytokines [interleukin (IL) – 1β，IL–6，epidermal growth factor receptor (EGFR)，transforming growth factor – β (TGF – β)，tumor necrosis factor (TNF)，fibroblast growth factor 2(FGF–2)]，adhesion molecules (ICAM–1) and signal transduction protein (STAT3，MAPK)，ect.，involving in the regulation of signaling pathways such as VEGF，hypoxia–inducible factor–1 (HIF–1)，IL–17，AGE–RAGE，TNF，etc. . After treatment，the protein expression levels of VEGF and STAT3 in wound tissues after NPM surgery were increased when compared with those before treatment ($P<0.05$). **Conclusion**：Network pharmacology and clinical studies have confirmed that Ruxian Xunxi Prescription exerts a curative effect on promoting postoperative wound healing after NPM surgery through multi–channel and multi–target synergistic regulation.

Keywords：Non–puerperal mastitis；Wound healing；Ruxian Xunxi Prescription；Chinese medicine fumigation；Network pharmacology；Signaling pathway；Clinical verification

非哺乳期乳腺炎(NPM)是一类发生在非哺乳期、非妊娠期的乳房慢性化脓性疾病[1]，临床上较为少见。在历代中医文献中，尚未查阅到与本病相似的病证记载。1985年，上海中医药大学顾伯华、陆德铭教授根据本病的发病特点及临床特点，将其命名为粉刺性乳痈[2]，包含现代医学的肉芽肿性小叶性乳腺炎、导管周围乳腺炎、乳腺导管扩张症等[3]。NPM是乳腺疑难病症，若治疗不当，易反复化脓、破溃，严重影响乳房外形，给患者带来极大的痛苦。上海市名中医陈红风教授传承发展顾氏外科特色，以中药内服结合“切扩–拖线–熏洗–垫棉”四联外治法治疗NPM，具有创伤小、痛苦轻、外形改变少、不易复发等显著优势[4]。本研究课题组长期致力于中医药内外结合治疗NPM各分期、各阶段的临床和基础研究，取得了丰硕成果。在NPM术后生肌收口期，四联外治法中的“熏洗”疗法发挥重要作用，能够加快创面愈合速度、改善创面愈合质量，减少恢复后乳房外形的改变。

陈红风教授自拟的乳腺熏洗方包含生黄芪、当归、丹参、蒲公英、儿茶、泽兰、郁金、桂枝8味中药，具有益气活血、生肌敛疮的功效。中药熏洗疗法结合了中医外治法及现代机械技术的优势，临床应用广泛。由于中药复方成分复杂，治疗作用具有多靶点、多途径的特点，对创面局部微环境的调节机制不明确，因此在一定程度上限制了其发展和推广。本研究采用网络药理学分析方法，探讨乳腺熏洗方促进NPM术后创面愈合的作用机制，了解乳腺熏洗方在乳房创面治疗中的核心活性成分、调节的信号通路、可能干预的靶点等，并通过临床研究进行验证，以期为乳房创面治疗提供科学的理论指导和评价指标。

1 研究资料与方法

1.1 网络药理学分析方法

1.1.1 乳腺熏洗方成分筛选与成分–靶点网络构建

通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)检索黄芪、当归、丹参、郁金、泽兰、儿茶、桂枝7种中药的化学成分，再根据化合物类药性(DL)≥0.18进行筛选，获得活性化合物和对应的靶点基因。从文献[5]中查阅“蒲公英”的有效成分，在有机小分子生物活性数据(PubChem)数据库中查找到对应的简化

分子线性输入规范(SMILES)结构，使用SwissADME数据库分析这些化合物的活性，再根据化合物的结构和活性，用小分子药物靶点预测在线平台(SwissTargetPrediction)预测其靶点。完成筛选后，通过Cytoscape 3.10.10软件构建化合物-靶点网络。

1.1.2 创面愈合靶点筛选与成分-疾病-靶点网络构建 以“wound healing”或“wound repair”与“breast”或“mammary gland”为条件，在人类基因综合分析数据库(Genecards)中检索疾病靶点，以同样条件在药物治疗靶点(TTD)数据库检索疾病靶点，将获取的基本靶点数据合并后删除重复值，获得最终靶点。再将乳腺熏洗方的成分靶点与乳房创面愈合靶点取交集，获取共同靶点，整合分析后构建“药物-成分-疾病”网络图。

1.1.3 乳腺熏洗方与创面愈合交集靶点PPI网络构建 将共同靶点输入STRING数据库，获得蛋白质相互作用(PPI)网络，再使用Cytoscape 3.10.10软件的CytoHubba插件计算网络自由度(degree)值，依据度值筛选出排名前20位的靶点，绘制PPI网络图。

1.1.4 基因本体(GO)功能富集分析及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析 利用DAVID数据库和Metascap数据库对疾病-药物潜在靶点进行GO功能富集分析及KEGG通路富集分析。将KEGG通路富集分析得出的主要信号通路与排名前20位的靶点进行热图分析。

1.2 临床研究验证 选取2023年6月23—30日于上海中医药大学附属龙华医院中医乳腺科住院，行切开扩创手术治疗的4例NPM患者。待术后创面脓腐脱净，处于生肌收口期时给予乳腺熏洗方治疗。本研究通过上海中医药大学附属龙华医院医学伦理委员会审批(2021LCSY047)，并于中国临床试验中心注册(ChiCTR2000035929)。

1.2.1 诊断标准 NPM的诊断标准参考《非哺乳期乳腺炎诊治专家共识》[6]。术后创面生肌收口期的判断标准参考《T/CACM 1186—2019中医外科临床诊疗指南粉刺性乳痈》[7]。

1.2.2 治疗方法 所有受试者行扩创手术，术后常规换药至脓腐脱净。研究性治疗从创面生肌收口期开始，给予乳腺熏洗方(处方：生黄芪、丹参、蒲公英各30 g，当归18 g，郁金、泽兰各15 g，儿茶12 g，桂枝9 g)熏洗创面，每天1次，每次熏洗15 min，治疗12 d。操作方法：每天1剂，将上述中药水煎取汁约400 mL，取200 mL放入药桶，加水至约1 000 mL，加热至95 ℃，将药桶与熏洗机管道相连接。患者取平卧位或斜卧位，暴露创口，熏洗机喷口距伤口25～30 cm，熏洗时以局部皮肤微微潮红，无烧灼疼痛感为宜。熏洗后常规换药，同时给予有益气健脾、养血和营功效的中药方水煎剂内服治疗，每天1剂，辨证加减用药。

1.2.3 观察指标 创面组织血管内皮生长因子(VEGF)、信号转导和转录激活因子3(STAT3)蛋白表达：在熏洗前、熏洗12 d后，分别取创面肉芽组织(约0.5 cm×0.5 cm)，冻存管封存、标记、移至-80 ℃冰箱备用。使用蛋白质印迹(Western blot)法检测上述蛋白表达。

1.2.4 统计学方法 临床验证部分的统计分析应用SPSS 27.0软件进行，用ImageJ软件分析出目的蛋白(VEGF、STAT3)和内参(β-actin)条带灰度值，目的蛋白/β-actin矫正误差，所得结果代表目的蛋白相对含量，实验数据以中位数(四分位间距)[M(IQR)]表示，2组数据比较采用秩和检验。统计学检验取双侧显著性水平$\alpha=0.05$，$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 研究结果

2.1 乳腺熏洗方成分-靶点关系网络 经筛选，乳腺熏洗方组方成分中有205个化合物、531个靶点符合条件。通过Cytoscape 3.10.10软件，将乳腺熏洗方中的8种中药、205个化合物与531个靶点构建药物成分-靶点关系网络图，见图1。乳腺熏洗方组方药物的主要化合物成分见表1。

表1 乳腺熏洗方组方药物的主要化合物成分

化合物类别	化合物名称	药物来源
黄酮类	毛地黄黄酮	黄芪、丹参、蒲公英
	芹黄素	丹参、蒲公英
	芫花素	蒲公英
	山柰酚	黄芪、儿茶
	槲皮素	黄芪、儿茶、蒲公英
	芒柄花素	黄芪
	儿茶素	儿茶、桂枝
植物甾醇类	β-谷甾醇	当归、郁金、泽兰、桂枝
菲醌类	脱氢丹参酮	丹参
酚酸类	丹酚酸	丹参
五环三萜类	齐墩果酸	丹参、泽兰
	熊果酸	丹参、泽兰

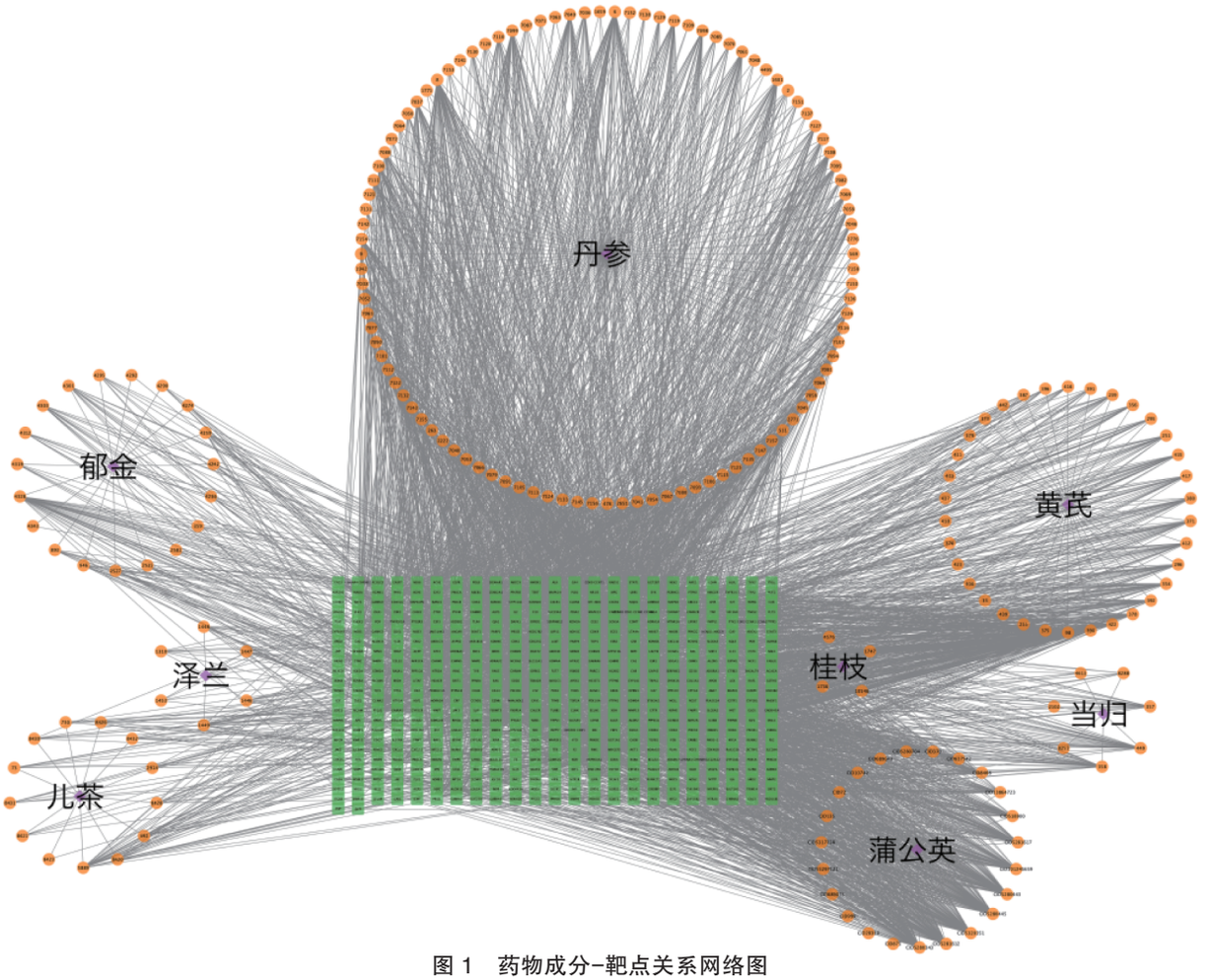


图 1　药物成分-靶点关系网络图

2.2　乳腺熏洗方药物成分-靶点与乳房创面愈合靶点交集分析　以“wound healing”或“wound repair”与“breast”或“mammary gland”为条件在 Genecards 数据库中检索，获得 590 个疾病靶点，以同样条件检索 TTD 数据库获得 7 个疾病靶点，将以上靶点数据合并后删除重复值，最终得到 594 个乳房创面愈合靶点。将 531 个乳腺熏洗方药物成分靶点与乳房创面愈合相关靶点取交集，得到 101 个共同靶点，绘制韦恩(Venn)图，见图 2。

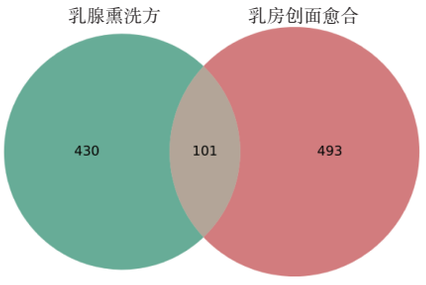


图 2　乳腺熏洗方与乳房创面愈合共同靶点韦恩图

2.3　乳腺熏洗方与乳房创面愈合共同靶点的 PPI 网络构建　对 101 个靶点间的关系进行处理，将度值排名前 20 位的靶点(见表 2)输入 STRING 数据库，绘制关键靶点相互作用关系图，可视化呈现如图 3。将乳腺熏洗方与乳房创面愈合的共同靶点导入 Cytoscape 3.10.10 软件中，构建“药物-成分-疾病”PPI 网络图，可视化呈现如图 4。

2.4　GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析　利用 DAVID 数据库和 Metascap 数据库对疾病-药物潜在靶点进行 GO 功能富集分析及 KEGG 通路富集分析。从参与的生物学过程(BP)、具有的分子功能(MF)和所处的细胞组分(CC)3 个方面对乳腺熏洗方的靶蛋白基因进行分类。GO 条目富集程度较高的 BP 包括环化酶活性的正向调节、参与伤口愈合的炎症反应等；MF 包括受体结合(趋化因子、表皮生长因子)、一氧化氮合酶活性等；CC 主要涉及质膜区、质膜外侧、整合素复合物等。最显著富集的前 6 个

BP、MF 和 CC 的 GO 条目见表 3，可视化呈现如图 5。

KEGG 通路富集分析得到 176 条通路，根据对数 P 值(LogP)值、富集分数及基因数目，筛选出 20 条信号通路。气泡大小代表相应通路的目标基因数量，气泡颜色代表富集显著性，可视化呈现如图 6。

将 20 条信号通路与关键靶点进行热图分析，可见关键靶点与 VEGF、缺氧诱导因子-1(HIF-1)、白细胞介素(IL)-17、肿瘤坏死因子(TNF)以及糖

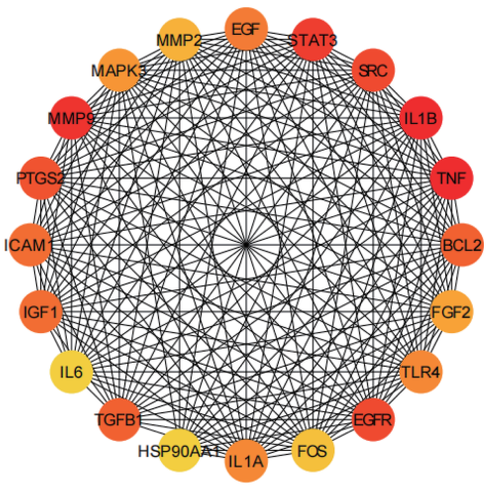


图 3　关键靶点相互作用关系图

表 2　乳腺熏洗方与乳房创面愈合共同靶点(前 20)

排序	度值	基因/靶点	属性
1	69	IL1β	白细胞介素家族
1	69	TNF	肿瘤坏死因子
3	61	MMP9	基质金属蛋白酶家族
4	60	STAT3	信号传导及转录激活因子
5	56	EGFR	表皮生长因子受体家族
5	56	SRC	SRC 家族激酶
7	54	PTGS2	前列腺素内过氧化物合酶(环加氧酶)
8	52	TGFβ1	转化生长因子受体家族
8	52	BCL2	抗凋亡蛋白(进化相关蛋白家族)
10	49	ICAM1	细胞间黏附分子
10	49	IGF1	胰岛素样生长因子
12	48	EGF	表皮生长因子
13	47	TLR4	Toll 样受体
13	47	IL1α	白细胞介素家族
15	44	MAPK3	丝裂原活化蛋白激酶
16	43	FGF2	成纤维细胞生长因子
17	42	MMP2	基质金属蛋白酶家族
18	40	FOS	核蛋白转录因子
19	39	HSP90AA1	热休克蛋白 90α 家族
19	39	IL6	白细胞介素家族

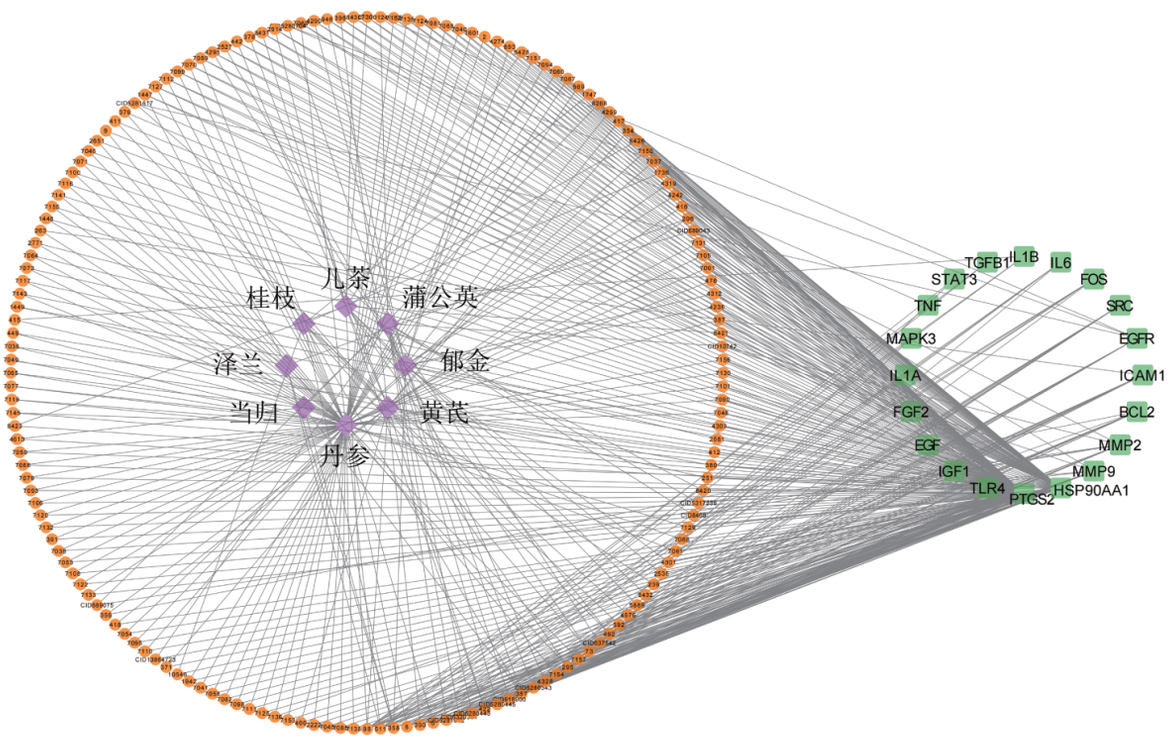


图 4　“药物-成分-疾病”PPI 网络图

表3　GO功能富集分析结果（前18）

分类	排序	GO语义	功能	分类	排序	GO语义	功能
生物学过程（BP）	1	GO：0031281	环化酶活性的正向调节	分子功能（MF）	4	GO：0038132	神经调节蛋白合成
	2	GO：0002246	参与伤口愈合的炎症反应		5	GO：0048248	CXCR3趋化因子受体结合
	3	GO：0010727	过氧化氢代谢的负向调节		6	GO：0043125	ErbB-3类受体结合
	4	GO：0035358	过氧化物酶体增殖物激活受体信号通路的调控	细胞组分（CC）	1	GO：0038143	ERBB3、ERBB2复合物
	5	GO：0014806	平滑肌增生		2	GO：0035866	整合素αvβ3-PKCα复合物
	6	GO：0055025	心肌组织发育的正向调节		3	GO：0031233	细胞质膜外侧固有成分
分子功能（MF）	1	GO：0004517	一氧化氮合酶活性		4	GO：0035867	整合素αvβ3-IGF-1-IGF1R复合物
	2	GO：0051022	Rho GDP-解离抑制剂结合		5	GO：0097180	丝氨酸蛋白酶抑制剂复合物
	3	GO：0034617	四氢生物蝶呤合成		6	GO：0098590	细胞质膜区

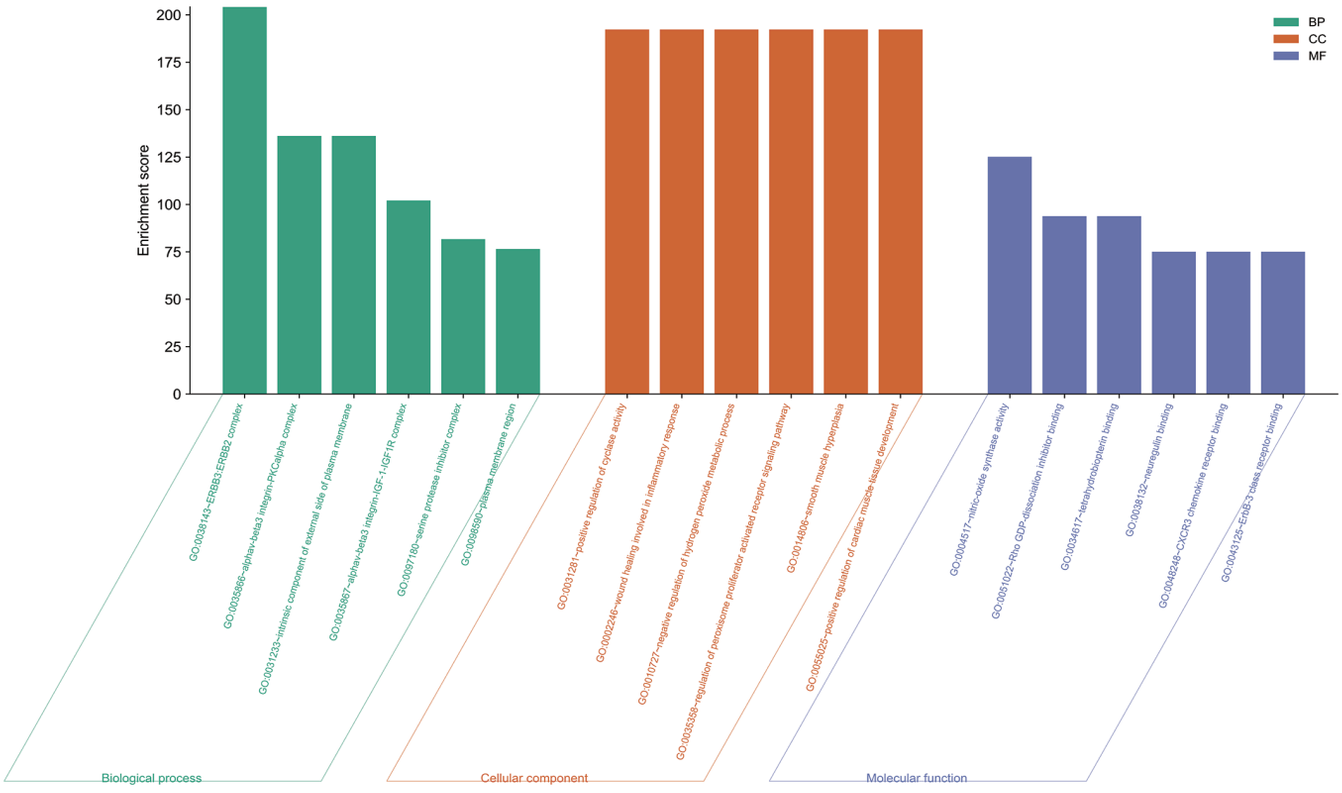


图5　GO功能富集分析柱状图

尿病并发症相关高级糖基化终末产物-受体（AGE-RAGE）信号通路密切相关，见图7。

2.5　创面组织蛋白表达验证　依据上述分析结果，对VEGF通路的关键蛋白进行临床验证。通过蛋白质印迹法检测NPM术后患者治疗前后创面肉芽组织中VEGF、STAT3蛋白的表达水平。治疗后，VEGF、STAT3蛋白表达水平均较治疗前升高（$P<0.05$）。具体数据见表4。蛋白质印迹法电泳结果见图8。

3　讨论

中药熏洗疗法历史悠久，相关记载最早见于《五十二病方》[8]。《医宗金鉴·外科心法要诀》记载“涤洗之法，乃疡科之要药也”，指出中药熏洗疗法在治疗外科疮疡疾病方面起重要作用[9]。

随着中医外治法研究技术手段的发展，中药熏洗疗法已成为具有理论指导和技术支持的特色外治法，临床应用范围也逐渐扩大。现代中药熏洗疗法是一种结合药力、机械热力共同作用的综合性治疗方法，在促进创面愈合方面，中药熏洗能通过加快局部和周身的血液循环和新陈代谢速度，改善局部组织营养和全身机能状态，达到治疗目的。应用不



图 6　KEGG 通路富集分析气泡图

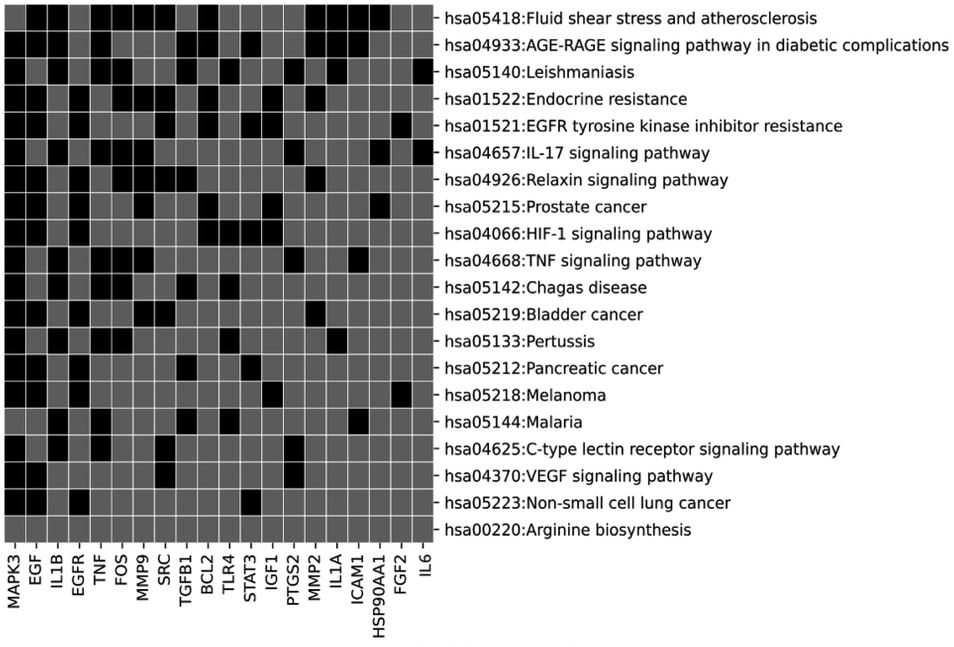
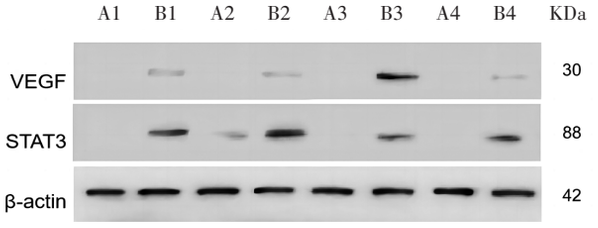


图 7　关键靶点与主要通路关系图

表 4　NPM 术后患者治疗前后创面 VEGF 通路相关蛋白表达比较[$M(IQR)$]

蛋白名称	例数	治疗前	治疗后	Z 值	P 值
VEGF/β-actin	4	0.0000(0.0005)	0.0595(0.1870)	−2.366	0.018
STAT3/β-actin	4	0.0015(0.0325)	0.2635(0.2175)	−2.309	0.021



注：A1、A2、A3、A4 为治疗前，B1、B2、B3、B4 为治疗后

图 8　VEGF、STAT3 蛋白表达

同的药物、复方煎汤熏洗，治疗作用各不相同，如清热解毒中药可杀菌、抗炎，清洁创面；益气化瘀中药可改善创面血液供应和组织营养状况，促进创面肉芽组织生长及上皮组织爬生[10]。

陈红风教授自拟的乳腺熏洗方，以生黄芪为君药，味甘，性微温，为补中益气之要药，善补肺、脾之气，具有固表止汗、托毒生肌、利水消肿、生津养血、行滞通痹、敛疮生肌等功效，《神农本草经》将其列为上品。现代药理学研究发现，黄芪的主要活性成分为多糖类、三萜皂苷类、黄酮类化合物[11]，黄酮类化合物可用于创面治疗[12]。当归、丹参、蒲公英为臣药，当归配伍黄芪，既能活血消肿，又能补血生肌。现代药理学研究表明，黄芪-当归药对的益气作用主要表现为调节物质能量代谢及免疫功能，活血作用的主要表现为降低血黏度，亦可通过抗氧化应激、抗炎、保护血管壁、干预血管生成等发挥作用[13]。丹参味苦，性微寒，既凉血又活血，能清泄瘀热而消痈肿，《日华子本草》言其能“排脓止痛，生肌长肉”。现代药理学研究表明，丹参含丹参酮类、丹参酚酸、挥发油类、多糖类和含氮化合物等化学成分，具有抗凝血、抗炎、抗氧化、抗纤维化等作用[14]。蒲公英清解、降泄并用，可清热解毒、消痈散结兼疏肝解郁、通乳，为治疗乳痈之首选，《本草备要》言其“专治痈肿疔毒”；蒲公英是具有抗炎作用的代表中药之一，蒲公英多糖能显著抑制巨噬细胞的炎症因子，如一氧化氮、IL-6、IL-1β、TNF-α 等[15]。儿茶为佐药，具有活血疗伤、止血生肌、收湿敛疮的功效，外用可治疗多种外科疮疡，《本草纲目》言其可用于“涂金疮，一切诸疮”，有“生肌定痛，止血，收湿”之功。郁金既能行气活血，又能清热凉血。郁金中的化学成分种类较多，主要有倍半萜类、单萜类、二萜类、多糖类、甾醇类、姜黄素类、生物碱类、油树脂、多肽类等，具有抗炎、镇痛、抗氧化等作用[16]。桂枝能温通经脉，又具有散寒止痛之效。通过数据挖掘技术分析黄芪常用对药发现，当归、防己、桂枝、丹参、葛根、甘草、白术 7 味中药与黄芪配伍的频率较高，黄芪配伍桂枝的抗炎作用显著[17]。泽兰为使药，善活血祛瘀、消肿止痛，在本方中，泽兰与桂枝、丹参、郁金、当归等具有活血化瘀功效的药物合用，可温寒散血，宣导其活血之力，防止凝聚之虞，增强其他药物的活血化瘀作用。

本研究通过网络药理学分析得到乳腺熏洗方的主要化合物成分有：芒柄花素（黄芪）、毛地黄黄酮（黄芪、丹参、蒲公英）、槲皮素（黄芪、儿茶、蒲公英）、山柰酚（黄芪、儿茶）、脱氢丹参酮（丹参）、丹酚酸（丹参）、芹黄素（丹参、蒲公英）、齐墩果酸与熊果酸（丹参、泽兰）、莞花素（蒲公英）、β-谷甾醇（当归、郁金、泽兰、桂枝）、儿茶素（儿茶、桂枝）等。组方中有多种中药含有黄酮类化合物，如芒柄花素、槲皮素、毛地黄黄酮、山柰酚、芹黄素、莞花素等，黄酮类化合物可以抑制炎性生物酶的渗出，缓解炎症造成的局部肿胀，并且具有调节免疫、抗氧化的作用[18]。丹参中含有丹参酮类化合物、丹酚酸，可以抑制血管内皮细胞的增殖、迁移和分化，具有调节血管微循环的效果[19]；丹酚酸具有促进创面肉芽组织生长的作用，主要依靠增强血管活性来发挥药效[20]。齐墩果酸存在于丹参、泽兰中，具有膜稳定作用，可使肥大细胞难以脱颗粒和释放炎性反应递质，临床上也用于骨关节炎等疾病的治疗[21]。

在基因蛋白层面，乳腺熏洗方发挥作用的靶点中，有 101 个与乳房创面愈合相关，对排序前 20 位的靶点行 PPI 网络分析，这些关键靶点主要为基质金属蛋白酶（MMP2、MMP9）、细胞因子[IL-1β、IL-6、表皮生长因子受体（EGFR）、转化生长因子-β（TGF-β）、TNF、成纤维细胞生长因子 2（FGF-2）等]、黏附分子（ICAM-1）和一些信号转导蛋白（STAT3、MAPK）等。STAT3 蛋白信号传导与细胞增殖、分化及凋亡等密切相关，在调控创面愈合方面，通过 Jaks 磷酸化或直接二聚化 STAT3 蛋白，可以激活 HIF-1 DNA 转录，上调 HIF-1 蛋白水平，进而激活 VEGF DNA 转录，上调 VEGF 表达，介导血管内皮细胞的新生[22]。STAT3 蛋白也是介导 IL-1β、IL-6、TGF-β 等炎性细胞因子功能的主要调节蛋白[23-24]。此外，TNF-α 和 IL-1β 会抑制 TGF-β 诱导的 p38 丝裂原活化蛋白激酶（p38MAPK）通路激活，导致神经生长因子表达降低，造成创面愈合延缓[25]。由此，从分子层面推测，乳腺熏洗方可能通过抗炎、促进血管生成和肉芽组织修复等机制，起到促进乳房创面愈合的作用。

在功能作用层面，GO 功能富集分析筛选出的前 18 个条目（BP、CC、MF 排序前 6 位）和 KEGG 通路富集分析筛选得到的前 20 条信号通路，主要涉及炎症反应、氧化应激反应、免疫反应、细胞增殖和凋亡等，VEGF、HIF-1 等信号通路均为创面愈合研究的经典通路[26]。提示乳腺熏洗方可能通过调控

VEGF、HIF-1、IL-17、AGE-RAGE、TNF等信号通路发挥促进乳房创面愈合的作用。通过调控炎性介质与细胞因子的合成和分泌、改善创面血供和微循环、改善创面营养等措施，从整体上改善创面愈合微环境，进而促进创面愈合。

网络药理学分析得出乳腺熏洗方促进NPM术后创面愈合的关键靶点和调控的信号通路，对这些候选靶点做进一步临床验证才是关键。因此，本研究的第二部分基于网络药理学分析结果，选择VEGF信号通路的STAT3、VEGF蛋白进行精确验证，发现使用乳腺熏洗方熏洗12 d后，NPM术后患者创面肉芽组织的VEGF、STAT3蛋白表达均较治疗前上升。但乳腺熏洗方促进NPM术后创面愈合的机制复杂，是多因素、多途径共同作用的结果，未来可设计前瞻性队列研究，更深入地探讨乳腺熏洗方对创面微环境的调节机制。

虽然中药熏洗疗法促进创面愈合的疗效显著，但仍缺乏深入的机制研究。由于使用的外用中药有些为经典方剂或院内制剂，有些为经验方，用药剂量不统一，用药的有效性尚待验证。基于多种生物信息学方法的网络药理学分析，被认为是研究中药复方作用机制的有效方法。如何将新设备、新技术与外用中药相结合，对中医外治法加以完善和改进，更有效地发挥其多靶点、多环节、多层次的综合调控作用，可能是未来中医外治法促进创面愈合研究的方向。

[参考文献]

[1] 韦丽光，韩猛. 非哺乳期乳腺炎的诊疗进展[J]. 实用医学杂志，2022，38(9)：1161-1165.
[2] 顾伯华. 实用中医外科学[M]. 上海：上海科学技术出版社，1985：135.
[3] 万华，陆德铭. 非哺乳期乳腺炎[M]. 上海：上海科学技术出版社，2022：23.
[4] 吴晶晶，陈红风. 陈红风以“切扩-拖线-熏洗-垫棉”四联外治法为主辨治复杂性粉刺性乳痈经验[J]. 上海中医药杂志，2018，52(6)：21-23.
[5] 聂文佳，徐帅师，张咏梅. 蒲公英有效成分及其药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2020，22(7)：140-145.
[6] 中华预防医学会妇女保健分会乳腺保健与乳腺疾病防治学组. 非哺乳期乳腺炎诊治专家共识[J]. 中国实用外科杂志，2016，36(7)：755-758.
[7] 中华中医药学会. T/CACM 1186—2019 中医外科临床诊疗指南：粉刺性乳痈[M]. 北京：中国中医药出版社，2019：42-46.
[8] 高晴倩，万华，陈筱. 中医外治法源流探析[J]. 中医文献杂志，2021，39(3)：49-51.
[9] 阙华发. 慢性难愈性疮面的中医外治策略[J]. 中医外治杂志，2018，27(1)：3-5.
[10] OU L，MENG Y F，CHEN Z H，et al. Evidence of Chinese herbal fumigation for knee osteoarthritis：A protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine（Baltimore），2021，100(6)：e24532.
[11] 邵长鑫，林欢欢，靳晓杰，等. 黄芪的炮制历史沿革及现代研究进展[J]. 中草药，2023，54(15)：5057-5074.
[12] 周鑫，刘鹏，郭燕玲，等. 基于Nrf2信号通路的中药促进糖尿病创面愈合研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(3)：241-249.
[13] 王文越，刘珊，吕琴，等. 黄芪-当归药对益气活血药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(6)：207-216.
[14] 冯科冉，李伟霞，王晓艳，等. 丹参化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. 中草药，2022，53(2)：609-618.
[15] 孙洋洋，赵宁，柏冬. 基于抗炎作用的蒲公英清热解毒的物质基础研究[J/OL]. 中华中医药学刊，2023：1-15[2023-08-16]. https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20230816.1119.024.
[16] 李星辰，尹丽燕，蔡红，等. 温郁金化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. 中国中药杂志，2023，48(20)：5419-5437.
[17] 郑文，曹兰秀，杜旭辉. 黄芪常用对药配伍机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报，2023，25(10)：205-209.
[18] 冯心怡，朱圣杰，郭冬婕，等. 中药植物雌激素促进慢性创面愈合的作用机制研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志，2023，29(4)：450-453.
[19] 王乐琪，张云帆，李莎莎，等. 丹参治疗微循环障碍作用机制的“成分-靶点-通路”多层次互作网络模型研究[J]. 中草药，2020，51(2)：439-450.
[20] 王明霞，彭艳，郑淇，等. 改善微循环治疗慢性难愈性创面的中药及单体研究进展[J]. 世界临床药物，2021，42(11)：1006-1010.
[21] 任雪雯，李元文，蔡玲玲，等. 复方紫草油治疗唇炎机制的网络药理学研究[J]. 世界中医药，2020，15(14)：2036-2042.
[22] 蔺焕萍，王巧侠，王小平，等. 基于VEGF，STAT3和HIF-1α信号转导分子探讨参佛胃康逆转小鼠慢性萎缩性胃炎癌前病变作用机制[J]. 时珍国医国药，2017，28(10)：2320-2322.
[23] HIRANO T. IL-6 in inflammation，autoimmunity and cancer[J]. Int Immunol，2021，33(3)：127-148.
[24] DEES C，PÖTER S，ZHANG Y，et al. TGF-β-induced epigenetic deregulation of SOCS3 facilitates STAT3 signaling to promote fibrosis[J]. J Clin Invest，2020，130(5)：2347-2363.
[25] OHTA M，CHOSA N，KYAKUMOTO S，et al. IL-1β and TNF-α suppress TGF-β-promoted NGF expression in periodontal ligament-derived fibroblasts through inactivation of TGF-β-induced Smad2/3- and p38 MAPK-mediated signals[J]. Int J Mol Med，2018，42(3)：1484-1494.
[26] ZHANG Y，ZHANG Y Y，PAN Z W，et al. GDF11 promotes wound healing in diabetic mice via stimulating HIF-1α-VEGF/SDF-1α-mediated endothelial progenitor cell mobilization and neovascularization[J]. Acta Pharmacol Sin，2023，44(5)：999-1013.

（责任编辑：吴凌，李海霞）