

基于文献数据挖掘和网络药理学分析的腰椎间盘突出症用药规律及作用机制研究

秦晓宽¹, 孙凯¹, 方圣杰¹, 王旭¹, 杨博文¹, 魏戌¹, 朱立国^{1,2} (1. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102; 2. 中医正骨技术北京市重点实验室, 北京 100007)

摘要: **目的** 通过文献数据挖掘归纳分析出中药治疗腰椎间盘突出症的用药特点及规律, 然后利用网络药理学研究方法探讨高频组合中药治疗腰椎间盘突出症的潜在作用靶点及分子机制。 **方法** 系统检索中国知网(CNKI)、万方(WanFang Data)、维普(VIP)数据库中中药治疗腰椎间盘突出症的数据挖掘类文献, 利用中医传承辅助平台中软件进行数据统计与分析, 筛选出基于关联规则分析的中药治疗腰椎间盘突出症的高频组合, 然后通过 TCMSP 等数据库收集这些高频组合中药的化学成分及所有有效活性成分并预测其作用靶点。通过公认的疾病数据库收集腰椎间盘突出症疾病靶点, 然后将药物靶点与疾病靶点进行映射, 并对关键靶点进行蛋白互作网络分析、GO 功能富集分析和 KEGG 信号通路富集分析。 **结果** 研究共纳入 24 篇文献, 处方总数共 7 233 张, 牛膝、当归、杜仲、甘草、熟地黄等是用药频次最多的药物, 温性药、甘味药在四气五味中占比最多, 中药药物归经频次最多的是肝经, 基于关联规则分析得出的高频中药组合为杜仲、当归、熟地黄、牛膝、白芍、甘草。高频中药组合有效活性成分 63 个, 药物作用靶点 667 个, 疾病作用靶点 447 个, 两者共有作用靶点 65 个, 蛋白互作分析中药治疗腰椎间盘突出症的关键蛋白可能是 AKT1、MAPK1、PIK3R1、PIK3CA、HRAS 等, 涉及的细胞生物过程 1 427 个, 细胞组成 46 个, 分子功能 81 个。通路富集分析 274 条, 其中包括 VEGF 信号通路、TNF 信号通路、HIL-1 信号通路、MAPK 信号通路等。 **结论** 中药治疗腰椎间盘突出症以补益肝肾、活血化瘀药为主, 同时兼以祛风寒湿药为辅。治疗腰椎间盘突出症的高频药物具有多靶点、多途径作用的特点, 可能是通过影响血管生成、炎症因子、免疫调节等途径发挥治疗作用。

关键词: 腰椎间盘突出症; 数据挖掘; 网络药理学; 用药规律; 作用机制

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)10-1490-10

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.10.011

Study on the Medication Rule and Action Mechanism of Lumbar Disc Herniation Based on Literature Data Mining and Network Pharmacology Analysis

QIN Xiaokuan¹, SUN Kai¹, FANG Shengjie¹, WANG Xu¹, YANG Bowen¹, WEI Xu¹, ZHU Ligu^{1,2} (1. Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China; 2. Beijing Key Laboratory of Orthopedics of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100007, China)

Abstract: **Objective** To summarize and analyze the characteristics and rules of traditional Chinese medicine in the treatment of lumbar disc herniation through literature data mining, and then to explore the potential targets and molecular mechanism of high-frequency combination of traditional Chinese medicine in the treatment of lumbar disc herniation by the research method of network pharmacology. **Methods** The data mining literatures of traditional Chinese medicine for the treatment of lumbar disc herniation in the database of CNKI, WanFang and VIP were

收稿日期: 2021-03-30

作者简介: 秦晓宽, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 脊柱及相关疾病临床与基础研究。Email: Aqinxiaokuan@163.com。通信作者: 魏戌, 男, 博士, 教授, 研究方向: 中医药防治骨与关节退行性疾病。Email: weixu.007@163.com。朱立国, 男, 博士, 教授, 研究方向: 脊柱及相关疾病研究。Email: zhl95@aliyun.com。

基金项目: 中医药传承与创新“百千万”人才工程(岐黄工程)岐黄学者; 中国中医科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费循证能力提升建设项目(ZZ13-024-7); 中国中医科学院“十三五”重点领域科研项目(ZZ10-022); 江西省博士后研究人员日常经费资助项目(2018RC13); 中国中医科学院博士研究生创新人才培养基金项目(2020 年度)。

systematically searched, and the data were statistically analyzed by using the software of the traditional Chinese medicine inheritance support system (TCMISS). The high frequency combination of traditional Chinese medicine in the treatment of lumbar disc herniation based on association rule analysis was selected. Then the chemical constituents and all the active components of these high-frequency combinations of traditional Chinese medicine were collected through TCMSP and other databases and the action targets were predicted. The disease targets of lumbar disc herniation were collected through the recognized disease database, and then the drug targets were mapped to the disease targets, and the key targets were analyzed by protein interaction network analysis, GO functional enrichment analysis and KEGG signal pathway enrichment analysis. **Results** The study included 24 articles and a total of 7 233 prescriptions. *Achyranthes bidentata*, *Chineses angelica*, *Eucommia ulmoides*, licorice, and prepared *Rehmannia glutinosa* were the most frequently used medicines. Warm and sweet herbs accounted for the largest proportion in the four natures and five flavors of drugs, and the most frequent channel tropism of traditional Chinese medicine was liver meridian. Based on association rules analysis, the high-frequency TCM combinations were *Eucommia ulmoides*, *Angelica sinensis*, prepared *Rehmannia glutinosa*, *Achyranthes bidentata*, *Paeonia lactiflora* and licorice. There are 63 active components, 667 drug targets and 447 disease targets in the combinations of high-frequency traditional Chinese medicine and 65 common targets. Protein interaction analysis showed that the key proteins of traditional Chinese medicine in treating lumbar disc herniation may be AKT1, MAPK1, PIK3R1, PIK3CA and HRAS, involving 1 427 cell biological processes, 46 cell composition and 81 molecular functions. 274 pathways, including VEGF signaling pathway, TNF signaling pathway, HIL-1 signaling pathway and MAPK signaling pathway, were enriched. **Conclusion** Traditional Chinese medicine in the treatment of lumbar disc herniation focuses on tonifying liver and kidney, promoting blood circulation and removing blood stasis, and combination of dispelling wind and cold dampness. High frequency drugs for the treatment of lumbar disc herniation have the characteristics of multi-target and multi-channel effects, which may play a therapeutic role by influencing angiogenesis, inflammatory factors, immune regulation and other ways.

Keywords: Lumbar disc herniation; data mining; network pharmacology; prescription rules; mechanism

腰椎间盘突出症 (Lumbar disc herniation, LDH) 是一种常见的导致患者下腰痛和神经根性腰腿痛的退行性脊柱疾病^[1]。我国针对腰椎间盘突出症的流行病学研究表明, 调查范围内各类人群中腰椎间盘突出症的患病率达 7.62%, 25~55 岁的人群发病率最高^[2], 青少年中男性多于女性^[3]。近年来, 国内外腰椎间盘突出症的发生率明显增加, 且患病人群低龄化趋势日益明显, 因其具有致残的风险, 导致缺勤、医疗资源负担和其他社会成本明显增加, 给人们带来了巨大的经济负担和精神负担。

中医药是我国独特的医疗卫生资源, 诸多医家基于自身长期临床实践经验立法处方治疗腰椎间盘突出症取得了较好的疗效, 并且对自身独特的用药特点及学术思想进行了充分的总结^[4-5], 但目前尚缺乏专门针对使用中药治疗腰椎间盘突出症的临床共性用药特点及规律的挖掘, 更缺乏对这些治疗腰椎间盘突出症核心方药团的作用机制的深入分析。因

此, 本研究系统搜集整理了各医家治疗腰椎间盘突出症用药特点的数据挖掘类临床研究文献, 并基于中医传承辅助平台 (V2.5)^[6] 和网络药理学^[7] 分别对其共性用药规律和潜在作用机制进行了系统论述, 以期今后防治腰椎间盘突出症的中医临床和基础研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 文献数据挖掘研究

1.1.1 文献来源 本研究搜集的文献主要来源于中国知网数据库 (CNKI)、维普中文科技期刊数据库 (VIP)、万方数据知识服务平台 (WanFang Data), 检索时间截止至 2020 年 12 月。检索策略采用高级检索中疾病与文献类型的主题词或关键词搭配检索, 疾病检索词主要包括“腰椎间盘突出症”“腰椎间盘突出”, 文献类型检索词主要包括“数据挖掘”“规律”“处方分析”“经验”。检索限定语种为中文, 没

有搜集未公开发表的会议论文及学位论文等其他灰色文献。

1.1.2 纳入标准 研究对象为腰椎间盘突出症患者,对患者年龄、地域、性别等信息不设限。研究类型为各医家或文献总结临床采用中药治疗腰椎间盘突出症的处方用药特点及规律分析。文献资料及临床数据详实,纳入处方数量大于等于 50 张,且在结果中明确报道了中药用药频次分析。

1.1.3 排除标准 排除动物实验研究、Meta 分析、个案报道、科普文献等类型文献;排除处方数量不符合、无法获取完整有效资料、存在明显质量问题的文献;数据重复发表或相同数据进行不同研究的文献,仅保留研究最相关的 1 篇。

1.1.4 文献筛选、资料提取及数据库建立 将数据库检索获得的文献导入文献管理软件并去除重复文献,通过阅读题名和摘要后排除明显不符合本研究的文献,然后仔细阅读可能符合要求的文献全文以进一步筛选,最终纳入符合研究的文献。文献资料提取的内容包括研究者姓名、发表年度、处方数量、中药味数、中药使用频次(前 15 位)、数据分析软件等。中药名称规范标准参考《中华人民共和国药典》^[8]中记载的药物名称。文献筛选、资料提取、中药名称标准化、中药录入、数据分析等步骤均为双人独立进行,遇到不一致情况则通过第 3 人共商解决,以保证研究准确性。数据库建立及分析软件使用公认的中医传承辅助平台(V2.5)。

1.2 网络药理学研究

1.2.1 数据库与软件^[9] TCMSP 数据库,查询药物成分及靶点;OMIM 数据库、GeneCards 数据库、TTD 数据库、DRUGBANK 数据库,查询腰椎间盘突出症疾病靶点;Uniport 数据库,进行蛋白标准化;Venny 2.1 在线软件,绘制韦恩图;Cytoscape 3.5.1 软件,进行网络图构建;STRING 11.0 数据库,进行蛋白互作分析;Metascape 数据库,进行 GO、KEGG 分析,等。数据库及软件的检索使用时间截止至 2020 年 12 月。

1.2.2 核心中药处方靶点及腰椎间盘突出症疾病靶点挖掘 选取文献数据挖掘中基于关联规则分析的治疗腰椎间盘突出症高频中药组合,通过 TCMSP 数据库获得中药的所有活性化学成分(口服生物利用度 $\geq 30\%$,类药性指数 ≥ 0.18 为筛选阈值标准)。收集所有有效活性成分的潜在靶点,并通过 Uniprot 在线数据库(限定物种为 Homo Sapiens)对靶点的名称进

行标准化,以此获得核心药物的潜在靶点。通过疾病数据库以“Lumbar Disc Herniation”为主题词检索疾病相关的靶点并进行标准化和去重处理,以此获得腰椎间盘突出症疾病的潜在靶点。

1.2.3 “药物-靶点-疾病”网络构建及蛋白互作分析 通过 Venny 分析获得药物与疾病共同作用的靶点。将获得的中药活性成分、药物与疾病共同靶点导入 Cytoscape 3.5.1 软件构建“活性成分-靶点-疾病”的可视化网络图。通过 STRING 11.0 在线数据库(Homo Sapiens)分析获得蛋白与蛋白相互作用结果,设置最高置信度蛋白质参数值 > 0.9 ,其他参数不变。

1.2.4 靶点基因本体论富集分析(GO)和京都基因与基因组百科全书通路(KEGG)富集分析 采用 Metascape 在线数据库对核心中药治疗腰椎间盘突出症的关键靶点进行靶点基因本体论富集分析和京都基因与基因组百科全书通路富集分析,分别获得相应的富集分析结果($P < 0.05$),并通过可视化图对结果进行展示。

2 结果

2.1 文献数据挖掘结果

2.1.1 纳入研究资料 检索 3 个数据库共获得 314 篇文献,经过排除重复后待筛文献 151 篇,剔除明显不相关的文献 105 篇,然后全文阅读 46 篇,按照纳入和排除标准进行严格筛查最终纳入 24 篇文献^[10-33],详细文献筛选流程图见图 1。纳入研究的处

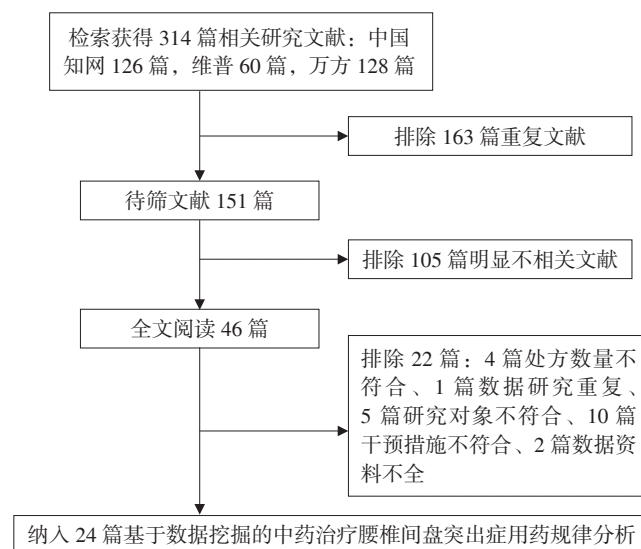


图 1 中药治疗腰椎间盘突出症(LDH)的文献筛选流程图

Figure 1 Flowchart of literature screening for treatment of LDH with traditional Chinese medicine

方总数共 7 233 张, 最早的研究发表于 2006 年^[33], 涉及中药味数总数最少 44 味^[27]。纳入研究基本均采用中医传承辅助平台及 SPSS 分析软件进行数据处理, 纳入研究的一般特征见表 1。

表 1 中药治疗腰椎间盘突出症(LDH)纳入研究特征表

Table 1 Characteristic table of studies included in the treatment of LDH with traditional Chinese medicine

序号	研究者	年份/年	处方数/个	药物总数/味	累计频次前 15 位药物	分析软件	标准化处理
1	张晨阳 ^[10]	2020	381	67	甘草、桂枝、大枣、白芍、杜仲、独活、生姜、鸡血藤、川牛膝、人参、威灵仙、细辛、柴胡、附子、葛根	SPSS 21.0	中药学(十三五教材)
2	王朝峰 ^[11]	2020	221	69	茯苓、甘草、牛膝、当归、威灵仙、赤芍、熟地黄、党参、薏苡仁、伸筋草、桑寄生、三七、鸡血藤、白术、法半夏	SPSS 19.0	《中药学》《中药大辞典》
3	唐晓菊 ^[12]	2020	263	210	当归、牛膝、甘草、杜仲、白芍、独活、川芎、续断、黄芪、熟地黄、桑寄生、地龙、茯苓、狗脊、鸡血藤	SPSS 20.0	临床中药学
4	李大刚 ^[13]	2019	138	116	当归、牛膝、杜仲、川芎、独活、白芍、熟地、桑寄生、红花、茯苓、秦艽、没药、鸡血藤、黄芪、全蝎	未说明	未说明
5	李洁 ^[14]	2019	595	/	甘草、黄芪、当归、熟地黄、牛膝、白芍、桃仁、红花、丹参、泽泻、茯苓、杜仲、地龙、续断、泽兰	中医传承辅助平台(V2.0.1)	未说明
6	严伟健 ^[15]	2019	156	149	茯苓、牛膝、杜仲、熟地黄、黄芪、甘草、山药、大枣、土鳖虫、淫羊藿、蜂房、巴戟天、山茱萸肉、徐长卿、牡丹皮	中医传承辅助平台(V2.0.1)	2010 年版《中华人民共和国药典》
7	惠真珍 ^[16]	2018	854	283	当归、防风、炒白芍、独活、炙甘草、川芎、茯神、桑寄生、陈皮、杜仲、桂枝、熟地黄、延胡索、党参片、川牛膝	SPSS 24.0, 古今医案云平台 V1.3.7	中医药学名词
8	张晓辉 ^[17]	2017	325	98	甘草、黄芪、当归、茯苓、牛膝、白芍、桃仁、红花、丹参、泽泻、熟地黄、杜仲、地龙、续断、泽兰	未说明	未说明
9	姚涛 ^[18]	2017	419	91	红花、当归、熟地黄、杜仲、黄芪、鹿角胶、狗脊、川牛膝、续断、肉桂、补骨脂、麻黄、小茴香、桑寄生、姜黄	SPSS 22.0	中药学
10	李朝辉 ^[19]	2017	158	174	当归、牛膝、甘草、杜仲、熟地黄、白芍、独活、川芎、桑寄生、威灵仙、续断、黄芪、茯苓、鸡血藤、没药	中医传承辅助系统(V2.5)	2015 年版《中华人民共和国药典》
11	梁浩东 ^[20]	2016	149	124	甘草、牛膝、杜仲、狗脊、徐长卿、独活、薏苡仁、牛大力、苍术、关黄柏、五指毛桃、千斤拔、黑老虎、制川乌、延胡索	中医传承辅助平台(V2.0.1)	2010 年版《中华人民共和国药典》
12	赵睿晞 ^[21]	2016	100	45	川牛膝、当归、穿山甲、豨莶草、炒杜仲、炒白芍、木瓜、地龙、威灵仙、泽兰、土鳖虫、续断(原文献仅列出前 12 味)	SPSS Clementine 12.0	中药学
13	李亚军 ^[22]	2016	516	309	牛膝、红花、甘草、伸筋草、桑寄生、当归、独活、透骨草、川芎、没药、熟地黄、羌活、肉桂、乳香、威灵仙	SPSS 17.0	中药学
14	杨永晖 ^[23]	2015	80	/	黄芪、当归、全蝎、大血藤、川芎、鸡血藤、延胡索、狗脊、葛根、赤芍、制没药、制乳香、蜈蚣、威灵仙、木瓜	中医传承辅助平台(V1.1)	未说明
15	杨济源 ^[24]	2015	310	254	当归、牛膝、杜仲、甘草、川芎、白芍、独活、桑寄生、续断、茯苓、红花、黄芪、地龙、秦艽、狗脊	中医传承辅助系统(V2.0)	未说明
16	唐皓 ^[25]	2014	443	89	牛膝、川芎、甘草、杜仲、当归、黄芪、熟地黄、延胡索、白芍、黄精、茯苓、全蝎、三七、丹参、蜈蚣	SPSS 16.0	未说明
17	李具宝 ^[26]	2013	654	/	桃仁、红花、乳香、没药、元胡、川乌、草乌、蕲蛇、土鳖虫、三七、细辛、附子、马钱子、骨碎补、血竭	未说明	未说明
18	吕德春 ^[27]	2012	86	44	威灵仙、制狗脊、补骨脂、牛膝、桑寄生、续断、炒杜仲、当归、炒青皮、五加皮、牡丹皮、制延胡索、独活、防风、细辛	PASW statistics18	第六版《中药学》
19	黄铁军 ^[28]	2012	423	150	桑寄生、独活、牛膝、当归、杜仲、白芍、威灵仙、地龙、乳香、没药、生黄芪、桃仁、红花、秦艽、木瓜	未说明	未说明
20	许金海 ^[29]	2012	428	173	白芍、柴胡、川芎、当归、党参、黄芪、熟地黄、羌活、牛膝、香附、秦艽、红花、桃仁、甘草、乳香	SPSS 16.0、WeKa 3.6.2	中药学
21	张新华 ^[30]	2012	75	155	牛膝、当归、甘草、杜仲、红花、川芎、乌头、独活、黄芪、没药、桃仁、白芍、乳香、细辛、熟地黄	未说明	未说明
22	张子会 ^[31]	2009	169	133	当归、牛膝、白芍、独活、甘草、乳香、杜仲、熟地黄、没药、红花、地龙、桑寄生、细辛、川芎、桂枝	未说明	未说明
23	孙崇秋 ^[32]	2008	167	133	当归、牛膝、白芍、独活、甘草、乳香、杜仲、熟地、没药、红花、地龙、桑寄生、细辛、川芎、桂枝	未说明	未说明
24	黄春梅 ^[33]	2006	123	146	牛膝、当归、杜仲、续断、白芍、威灵仙、熟地、川芎、黄芪、地龙、红花、独活、桑寄生、乳香、没药	未说明	未说明

2.1.2 中药用药频次分析 选取研究所纳入的 24 篇^[10-33]文献中使用中药治疗腰椎间盘突出症频次排名前 15 味药物, 共获得使用中药 81 味。对纳入的中药再次进行频数累计分析, 按照从高到低的频次进行排序, 筛选出频次 ≥ 10 次的中药, 共 12 味。具体药物、使用频次及分类见表 2。

表 2 治疗腰椎间盘突出症(LDH)中药频次 ≥ 10 次的药物
Table 2 Chinese medicine with frequency ≥ 10 for the treatment of LDH

序号	中药名称	频次/次	分类
1	牛膝	21	活血化瘀药、活血调经类
2	当归	20	补虚药、补血类
3	杜仲	19	补虚药、补阳类
4	甘草	16	补虚药、补气类
5	熟地黄	16	补虚药、补血类
6	白芍	16	补虚药、补血类
7	黄芪	15	补虚药、补气类
8	独活	14	祛风湿药、祛风寒湿类
9	桑寄生	13	祛风湿药、祛风寒强筋骨类
10	川芎	13	活血化瘀药、活血止痛类
11	红花	13	活血化瘀药、活血调经类
12	没药	10	活血化瘀药、活血止痛类

2.1.3 中药性味和归经分布情况 对纳入的中药的四气、五味以及归经进行分析发现, 温性药物占比最多, 平性药物次之; 甘味药物应用最多, 辛、苦味药次之。具体分布见图 2。使用中药药物归经频次肝经最多, 高达 245 次, 脾经、肾经次之, 分别为 145 次、142 次, 具体分布见图 3。

2.1.4 基于关联规则的高频药物组合分析 在中医传承辅助平台系统中的“组方规律”模块中, 将支持度个数设为 14, 置信度设为 0.85, 筛选出中药治疗腰椎间盘突出症的频次 ≥ 14 次的药物组合有 15 对, 具体见表 3。然后对纳入药物进行关联规则分析并采用网络可视图方式展示(置信度 >0.85), 共得到 29 项关联规则, 具体信息见表 4、图 4。

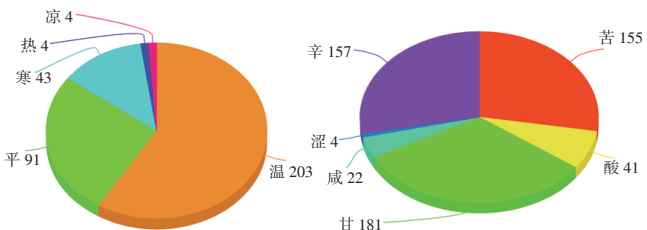


图 2 中药治疗腰椎间盘突出症(LDH)在四气五味中所占比重
Figure 2 The proportion of Chinese medicine used in the treatment of LDH in the four natureb and five flavors

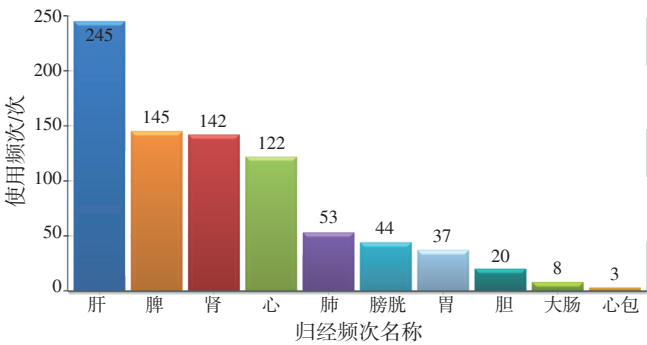


图 3 治疗腰椎间盘突出症(LDH)的中药归经使用频次分析
Figure 3 Analysis on the frequency of meridian tropism of traditional Chinese medicine for the treatment of LDH

2.2 网络药理学分析结果

2.2.1 核心中药的主要活性成分 选取数据挖掘中基于关联规则的高频中药组合进行分析, 结果显示杜仲所有化学成分 147 个、当归所有化学成分 125 个、熟地黄所有化学成分 76 个、牛膝所有化学成分 176 个、白芍所有化学成分 85 个、甘草所有化学成分 280 个。根据设定筛选阈值进行筛选, 因甘草符合条件的活性化学成分相对其他核心中药较多, 且甘草频次排名靠前, 为了综合反应核心中药治疗腰椎间盘突出症的作用机制, 甘草口服生物利用度调整为 60%, 最终确定符合要求的高频中药组合有效活性成分 63 个。

2.2.2 药物作用靶点、腰椎间盘突出症疾病靶点及构建可视化网络图 通过数据库搜集有效活性成分的药物靶点, 并通过 Uniport 数据库进行标准化, 共获得 3 028 个药物靶点, 去除重复共获得 667 个靶蛋白。经 OMIM 数据库、GeneCards 数据库、TTD 数据库、DRUKBANK 数据库查询腰椎间盘突出症相关靶点共 455 个, 查重后获得 447 个靶点。通过韦

表 3 治疗腰椎间盘突出症(LDH)出现频次 ≥ 14 次的中药组合
Table 3 Combinations of Chinese medicine for the treatment of LDH with frequency ≥ 14

序号	药物模式	频次/次	序号	药物模式	频次/次
1	牛膝, 当归	19	9	当归, 白芍	15
2	牛膝, 杜仲	18	10	熟地黄, 当归	15
3	牛膝, 白芍	16	11	牛膝, 杜仲, 白芍	15
4	熟地黄, 牛膝	16	12	牛膝, 当归, 白芍	15
5	杜仲, 当归	16	13	熟地黄, 牛膝, 当归	15
6	牛膝, 杜仲, 当归	16	14	杜仲, 当归, 白芍	14
7	牛膝, 甘草	15	15	牛膝, 杜仲, 当归, 白芍	14
8	杜仲, 白芍	15			

恩 (Venny) 取交集得到药物与疾病共有靶点 65 个, 并构建成分-靶点和疾病-靶点的可视化网络图,

表 4 中药治疗腰椎间盘突出症 (LDH) 药物组合关联规则 (置信度 > 0.85)

Table 4 Association rule of drug combination for the treatment of LDH (confidence level > 0.85)

序号	规则	置信度
1	白芍 -> 牛膝	1.000 000
2	熟地黄 -> 牛膝	1.000 000
3	杜仲, 当归 -> 牛膝	1.000 000
4	杜仲, 白芍 -> 牛膝	1.000 000
5	当归, 白芍 -> 牛膝	1.000 000
6	熟地黄, 当归 -> 牛膝	1.000 000
7	当归 -> 牛膝	0.950 000
8	杜仲 -> 牛膝	0.947 368
9	甘草 -> 牛膝	0.937 500
10	白芍 -> 杜仲	0.937 500
11	白芍 -> 当归	0.937 500
12	熟地黄 -> 当归	0.937 500
13	牛膝, 白芍 -> 杜仲	0.937 500
14	白芍 -> 牛膝, 杜仲	0.937 500
15	牛膝, 白芍 -> 当归	0.937 500
16	白芍 -> 牛膝, 当归	0.937 500
17	熟地黄, 牛膝 -> 当归	0.937 500
18	熟地黄 -> 牛膝, 当归	0.937 500
19	当归, 白芍 -> 杜仲	0.933 333
20	杜仲, 白芍 -> 当归	0.933 333
21	牛膝, 当归, 白芍 -> 杜仲	0.933 333
22	牛膝, 杜仲, 白芍 -> 当归	0.933 333
23	牛膝 -> 当归	0.904 762
24	牛膝, 杜仲 -> 当归	0.888 889
25	杜仲, 当归 -> 白芍	0.875 000
26	白芍 -> 杜仲, 当归	0.875 000
27	牛膝, 杜仲, 当归 -> 白芍	0.875 000
28	牛膝, 白芍 -> 杜仲, 当归	0.875 000
29	牛膝 -> 杜仲	0.857 143

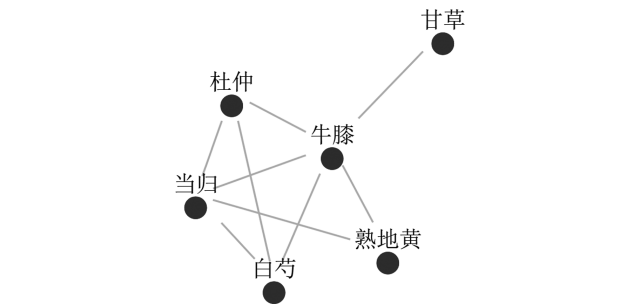


图 4 中药治疗腰椎间盘突出症 (LDH) 的用药关联规则模式图

Figure 4 Diagram of association rules of Chinese medicine in the treatment of LDH

见图 5、图 6。

2.2.3 靶点蛋白互作网络分析 将获得的 65 个共有靶点上传至在线 STRING11.0 数据库, 设置最高置信度蛋白质参数评分值 > 0.9, 获取相应的蛋白相互作用信息, 获得关键靶点蛋白 54 个, 见图 7。根据度 (degree) 值 ≥ 7 筛选列举中药高频组合药物治疗腰椎间盘突出症排名前 22 位的关键靶点, 见表 5。

2.2.4 GO 生物功能注释及 KEGG 通路富集分析 采用 Metascape 数据库对高频中药组合治疗腰椎间盘突出症关键靶点进行 GO 和 KEGG 通路富集分析。筛选出细胞生物过程 (Biological Process, BP) 1 427 个, 主要包括 Bergmann 胶质细胞分化、周围神经系统髓鞘维持、小脑颗粒细胞前体增殖的调控、对钴离子的反应等。细胞组成 (Cell Component, CC) 46 个, 主要包括树突状细胞质、神经元投射细胞质、嗜蓝粒颗粒腔、液泡腔等。分子功能 (Molecular Function) 81 个, 主要包括一氧化氮合酶调节剂活性、半胱氨酸型内肽酶活性参与凋亡过程、半胱氨酸型内肽酶活性参与凋亡的执行阶段、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性等。根据富集排序, 各取前 10 位进行可视化处理, 见图 8。KEGG 分析中有 274 条信号通路, 其中包括 VEGF 信号通路、TNF 信号通路、HIL-1 信号通路、MAPK 信号通路等, 根据靶点命中数量进行排序, 列举了前 20 条通路, 见图 9。

3 讨论

《医林改错》记载: “凡肩痛、臂痛、腰疼、腿疼, 或周身疼痛, 总名曰痹症”。中医一般将腰椎间盘突出症 (LDH) 归为 “痹证” “腰痛” 等范畴, 认为其总体病机特点属于本虚标实之证, 主要辨证分型包括血瘀型、湿热型、寒湿型、肝肾亏虚型^[34-35]。洪炳杰等^[36]通过文献分析腰椎间盘突出症的中医证素分

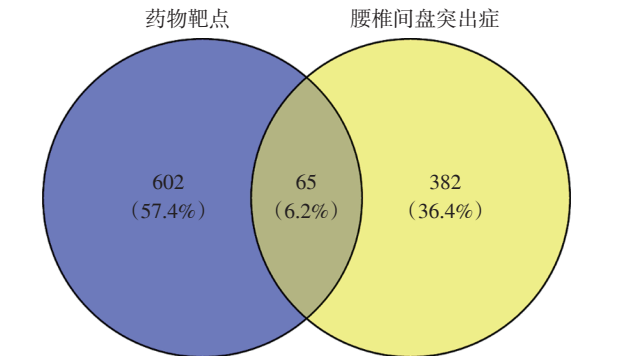
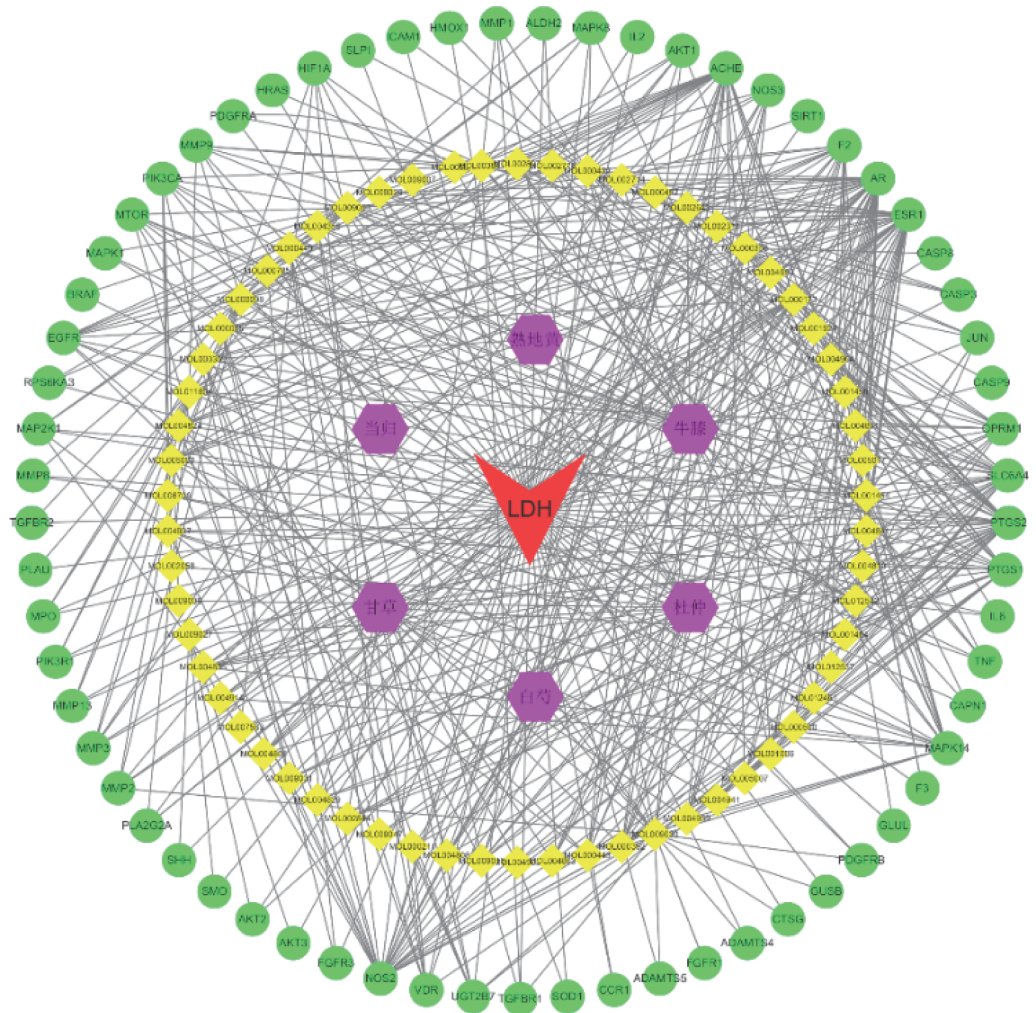


图 5 药物与腰椎间盘突出症 (LDH) 共有靶点韦恩图

Figure 5 Venn diagram of common targets for drugs and LDH



注：红色代表腰椎间盘突出症(LDH)；紫色代表单味中药；黄色代表中药的有效活性成分；青色代表作用的靶标；灰色线条代表相互作用关系
图 6 高频组合药物活性成分-靶点-腰椎间盘突出症(LDH)的网络图

Figure 6 Network diagram of active ingredients of high-frequency combination drugs-target-LDH

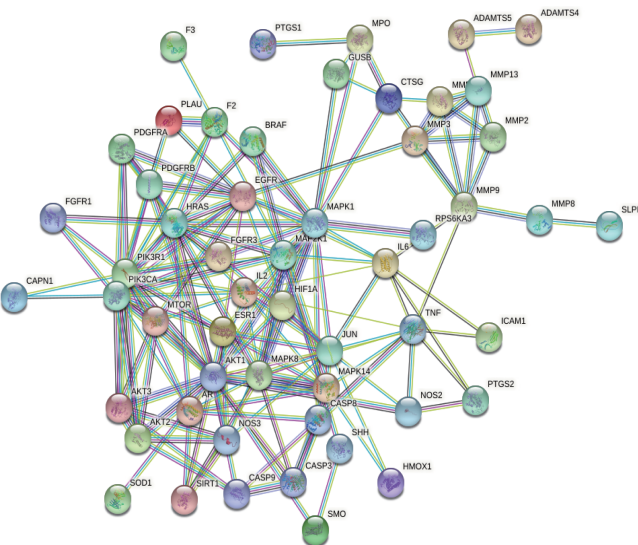


图 7 中药高频组合治疗腰椎间盘突出症(LDH)蛋白相互作用网络图

Figure 7 Protein interaction network diagram of high-frequency combination drugs for the treatment of LDH

表 5 中药高频组合治疗腰椎间盘突出症(LDH)关键蛋白 (前 22 位)

Table 5 The key protein of high-frequency combination drugs for the treatment of LDH (Top 22)

序号	基因名称	度(Degree)值	序号	基因名称	度(Degree)值
1	AKT1	21	12	MAPK14	10
2	MAPK1	18	13	IL6	9
3	PIK3R1	17	14	ESR1	9
4	PIK3CA	17	15	MMP9	8
5	HRAS	15	16	AR	8
6	JUN	13	17	F2	7
7	EGFR	12	18	AKT2	7
8	IL2	12	19	MTOR	7
9	MAP2K1	11	20	NOS3	7
10	MAPK8	11	21	AKT3	7
11	TNF	10	22	PDGFRB	7

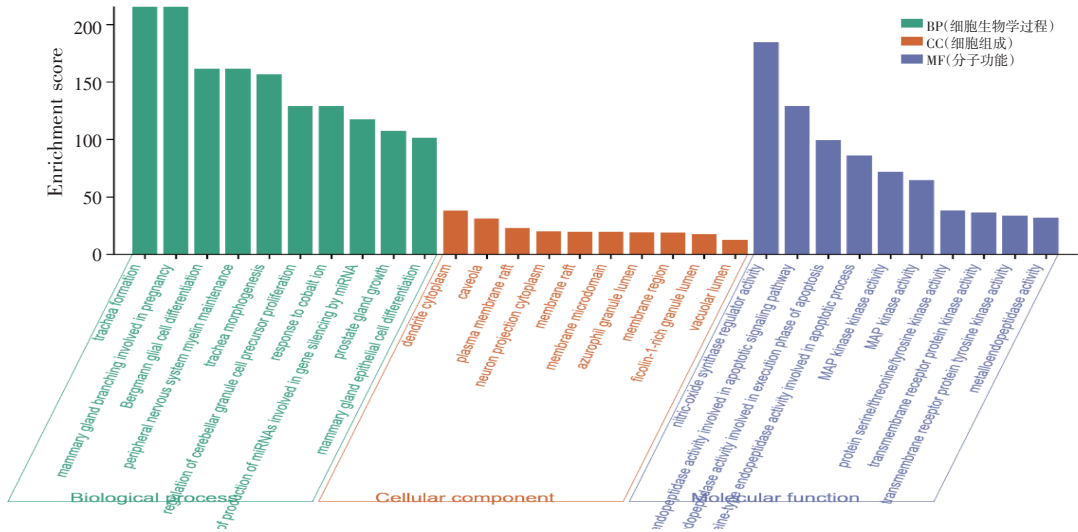


图 8 高频中药组合治疗腰椎间盘突出症(LDH)关键靶点 GO 分析
 Figure 8 GO analysis of key targets of high-frequency combination drugs for the treatment of LDH

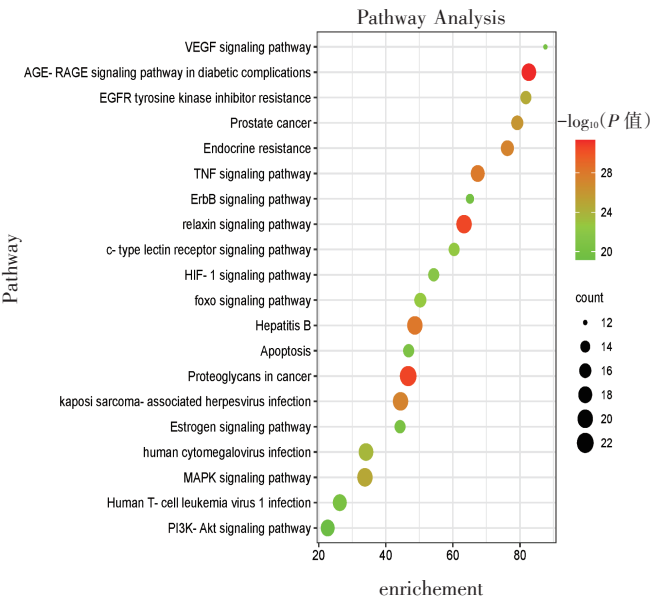


图 9 高频中药组合治疗腰椎间盘突出症(LDH)靶点 KEGG 富集分析
 Figure 9 KEGG enrichment analysis of targets of high-frequency combination drugs for the treatment of LDH

布规律，发现主要的病位证素是肾、肝等，主要的病性证素是血瘀、湿、寒、气滞等。因此，国医大师李济仁主张治疗痹证采用“寒热辨治、气血并举、痹痿同治”的三期疗法，当归与黄芪是李老使用中药治疗腰椎间盘突出症频次最高的药对^[23]。全国名老中医施杞教授主张治疗腰椎间盘突出症常以“益气化瘀补肾法”为主要治疗原则，补虚药、活血化瘀药是施老常用的两大类药物，桃仁和红花、牛膝和羌活等是常用的药对^[29]。总之，尽管各位医家治疗腰椎间盘突出症的治疗法则与用药存在区别，但

其处方用药的共同规律尚有迹可循，且值得挖掘总结。

本研究基于文献数据挖掘系统分析了中药治疗腰椎间盘突出症的用药特点与规律，探究了其用药精髓。研究表明核心处方主要以补虚类中药与活血化瘀类为主，组方主要为临床壮腰通络方及芍药甘草汤，用药频次最高的是牛膝(逐瘀通经，补肝肾，强筋骨)、当归(补血活血，调经止痛)、杜仲(补肝肾，强筋骨)、甘草(补脾益气，缓急止痛)、熟地黄(补血滋阴，益精填髓)、白芍(养血调经，柔肝止痛)，充分体现了补益肝肾、活血止痛在治疗腰椎间盘突出症中的核心地位，也印证了腰椎间盘突出症当前临床治疗与基础研究的实际情况^[37-39]。在治疗本虚的情况下，分析发现独活(祛风除湿，通痹止痛)、桑寄生(祛风湿，补肝肾，强筋骨)这两个祛风湿、强筋骨类药也是常用之药，这两个药也是经典名方独活寄生汤治疗腰椎间盘突出症的核心用药^[40]。

现代医学认为腰椎间盘突出症是由各种原因导致突出的椎间盘压迫神经根、脊髓后产生一系列症状和体征，但本病症状的产生，尤其疼痛症状，不仅与机械压迫有关，还与压迫周围炎症因子及介导的反应有关。此外，突出的髓核促使血管内皮细胞分泌增多，进而导致血管通透性增加炎症因子如 TNF-α 浓度增高并引起一系列炎症因子信号转导^[41]。所以数据挖掘得到的核心药物治疗腰椎间盘突出症的作用机制可能体现在对炎症因子及炎症反应的控制，保护压迫的神经等方面。根据现代药理学知识，牛膝的主要化学成分槲皮素可通过影响成骨细胞分化和

破骨细胞分化相关基因的表达,减轻小鼠的氧化应激从而提高骨性能^[42];山柰酚主要是通过抑制脂肪生成、炎症反应、氧化应激等一系列方式达到骨保护作用^[43]。甘草的主要活性成分为黄酮类化合物,具有增强免疫、抗炎、抗氧化、神经保护等多种作用^[44]。本研究进一步利用网络药理学研究方法,对核心用药处方进行了关键靶点和信号通路的富集分析,中药高频组合治疗腰椎间盘突出症关键靶点是 AKT1、MAPK1、PIK3R1、PIK3CA、HRAS 等,信号通路主要包括 VEGF 信号通路、TNF 信号通路、HIL-1 信号通路、MAPK 信号通路等。GO 富集分析结果表明,核心药物处方治疗腰椎间盘突出症涉及多方面生物学过程,特别体现在胶质细胞分化、一氧化氮合酶调节剂活性调控、细胞凋亡等方面。有实验研究表明,终板内 VEGF 信号通路参与了椎间盘退变的过程^[45],且在椎间盘突出重吸收中发挥促进作用^[46]。TNF 信号通路中相关的细胞炎性因子与腰椎间盘突出症一直关联密切^[47],一项研究腰椎间盘突出症患者术后 1 个月和 12 个月 TNF- α 水平变化的实验证实,慢性腰椎神经根病(腰椎间盘突出症引起的腰椎神经根痛)可能与椎间盘突出后血清中高水平的促炎物质 TNF- α 有关^[48]。MAPK 有 3 个主要家族,ERKs、JNKs 和 p38 MAPKs,其中 p38 蛋白激酶在神经损伤、脊髓损伤、炎症等多种疼痛模型的发生和发展中具有重要作用。王益敏等^[49]发现在髓核致炎神经根痛大鼠脊髓背角中出现胶质细胞激活及 p-p38 蛋白表达,给予 p38 MAPK 特异性抑制剂后痛敏发生改善。而本研究中的核心用药处方中的药物是否能通过这些关键靶点和信号通路发挥治疗腰椎间盘突出症作用,有待于今后进一步实验验证。

本研究借助文献数据库数据挖掘的方法结合网络药理学方法的研究思路,系统总结出各医家使用中药内服治疗腰椎间盘突出症的用药规律及特点,并对这些核心处方药物进行了可能的作用靶点和信号通路的富集分析,为临床医师遣方用药提供了依据参考,也为中药治疗腰椎间盘突出症的基础研究提供了预测思路。但本研究仍存在一定局限性,基于文献数据挖掘方法仅简单地统计分析出用药频次,未能充分考虑中医辨证论治的特点,且基于文献的研究数量有限,纳入的文献质量水平不等,医家的用药经验不一,因而可能导致研究结果存在偏差。此外,尽管基于网络药理学分析获得了关键靶点及

其可能的作用信号通路,但未能进一步采用体内外实验验证来明确其预测的准确性,缺乏研究数据支撑。因此,这些局限性仍需在今后的研究中进一步补充和完善。

参考文献:

- [1] LEE J H, CHOI K H, KANG S, et al. Nonsurgical treatments for patients with radicular pain from lumbosacral disc herniation[J]. The spine journal: official journal of the North American Spine Society, 2019, 19(9): 1478-1489.
- [2] 王国基, 王国军, 彭健民, 等. 腰椎间盘突出症致病因素的流行病学研究[J]. 现代预防医学, 2009, 36(13): 2401-2403.
- [3] 余晓艳, 史胜苗, 刘芳琴. 青少年腰椎间盘突出症流行病学及危险因素分析[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2018, 15(5): 101-104.
- [4] 梁东悦, 周学龙, 谢利双, 等. 腰椎间盘突出症的中西医结合治疗进展[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(7): 210-211.
- [5] 陈新华, 樊一桦, 于臻. 中药内服治疗腰椎间盘突出症的临床研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2017, 36(3): 237-240.
- [6] 卢朋, 李健, 陈建新, 等. 中医传承辅助系统软件开发与应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 1-4.
- [7] HOPKINS A L. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. Nature Chemical Biology, 2008, 4(11): 682-690.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 201-202.
- [9] 孙凯, 朱立国, 魏戌, 等. 基于网络药理学的“淫羊藿-白芍”配伍治疗腰椎间盘突出症作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(03): 609-616.
- [10] 张晨阳, 杨少锋, 聂颖, 等. 杨少锋教授治疗腰椎间盘突出症用药规律研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(6): 722-726.
- [11] 王朝峰, 欧志文, 吴慧琴, 等. 基于数据挖掘探讨范德辉教授治疗腰椎间盘突出症的用药规律[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(7): 1231-1234, 1272.
- [12] 唐晓菊, 张磊, 刘汝专, 等. 基于数据挖掘的黄有荣教授治疗腰椎间盘突出症用药规律分析[J]. 中国中医急症, 2020, 29(2): 221-225.
- [13] 李大刚, 吴俊哲, 陈世忠, 等. 中药治疗腰椎间盘突出症用药规律再分析[J]. 湖北中医杂志, 2019, 41(8): 43-44.
- [14] 李洁, 张晓辉, 李宏九, 等. 基于数据挖掘技术探讨平乐正骨治疗腰椎间盘突出症的用药规律[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(9): 1255-1257.
- [15] 严伟健, 胡赢, 李梓灏, 等. 邓晋丰教授治疗腰椎间盘突出症的用药规律研究[J]. 中国中医急症, 2019, 28(3): 534-536.
- [16] 惠真珍. 基于数据挖掘技术总结李家康教授治疗腰椎间盘突出症的临床研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2018.
- [17] 张晓辉, 李洁, 张虹, 等. 平乐正骨疗法治疗腰椎间盘突出症用药规律分析[J]. 山东中医杂志, 2017, 36(4): 291-293.
- [18] 姚涛. 基于数据分析的名老中医疗治腰椎间盘突出症辨证与用药特色研究[D]. 郑州: 河南中医药大学, 2017.

- [19] 李朝辉. 基于数据挖掘的治疗腰椎间盘突出症的用药规律探讨[D]. 济南: 山东中医药大学, 2017.
- [20] 梁浩东, 潘碧琦, 潘建科, 等. 刘军教授治疗腰椎间盘突出症的用药规律研究[J]. 中国中医急症, 2016, 25(11): 2042-2045.
- [21] 赵睿晞. 方证数据挖掘分析张氏骨伤对腰椎间盘突出症的辨证用药规律[J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(6): 44-46.
- [22] 李亚军, 李骥征, 侯刚, 等. 2002—2012年中药治疗腰椎间盘突出症用药规律探讨[J]. 北京中医药, 2016, 35(9): 874-876.
- [23] 杨永晖, 李艳, 胡谦. 基于关联规则与熵聚类的国医大师李济仁治疗腰椎间盘突出症的用药规律研究[J]. 中国医药导报, 2015, 12(34): 102-106.
- [24] 杨济源, 林聪, 潘建科, 等. 基于关联规则和复杂系统熵聚类的腰椎间盘突出症用药规律研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(8): 1045-1047.
- [25] 唐皓, 仇湘中, 余娜. 中药治疗腰椎间盘突出症临床用药规律的聚类分析[J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(3): 12-15.
- [26] 李具宝, 熊启良, 亓峰, 等. 近10年文献中特殊中药治疗腰椎间盘突出症的用药规律探讨[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2013, 21(6): 27-29.
- [27] 吕德春, 谢先霞. 劳氏伤科治疗腰椎间盘突出症用药规律的聚类分析[J]. 中医正骨, 2012, 24(5): 70-72.
- [28] 黄铁军. 中药治疗腰椎间盘突出症组方用药规律分析[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(4): 129-131.
- [29] 许金海, 王晶, 叶洁, 等. 基于数据挖掘的施杞教授治疗腰椎间盘突出症用药经验分析[J]. 上海中医药大学学报, 2012, 26(6): 56-62.
- [30] 张新华, 胡艳明, 李珺. 腰椎间盘突出症治疗常用中药及组方规律[J]. 中国民间疗法, 2012, 20(5): 45.
- [31] 张子会, 唐国时, 刘志永, 等. 常用中草药治疗腰椎间盘突出症的统计与分析[J]. 中国医学创新, 2009, 6(30): 135-136.
- [32] 孙崇秋, 武辉, 李哲, 等. 腰椎间盘突出症常用中药前15味统计与分析[J]. 陕西中医学院学报, 2008, 31(6): 76-77.
- [33] 黄春梅, 苏培基, 李大刚. 中药治疗腰椎间盘突出症用药规律分析[J]. 湖北中医杂志, 2006, 28(9): 36-37.
- [34] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 24.
- [35] 曹盼举, 田永衍, 吴建民, 等. 腰椎间盘突出症古代中医文献溯源[J]. 陕西中医药大学学报, 2018, 41(3): 16-18.
- [36] 洪炳杰, 王道明, 张沈屹婷. 腰椎间盘突出症中医证素分布与组合规律文献研究[J]. 中医临床杂志, 2020, 32(11): 2109-2113.
- [37] 孙凯, 朱立国, 魏戌, 等. 壮腰通络方治疗腰椎间盘突出症45例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(1): 19-23.
- [38] 孙凯, 魏戌, 朱立国, 等. “杜仲-牛膝”药对治疗腰痛机制的网络药理学探讨[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(8): 935-942.
- [39] 钟远鸣, 何炳坤, 吴卓檀, 等. 芍药甘草汤治疗腰椎间盘突出早期疼痛作用机制的网络药理学分析[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(20): 3194-3201.
- [40] 林咏梅, 仇嘉. 独活寄生汤治疗腰椎间盘突出症的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2019, 40(7): 79-81.
- [41] AMIN R M, ANDRADE N S, NEUMAN B J. Lumbar Disc Herniation[J]. Curr Rev Musculoskelet Med, 2017, 10(4): 507-516.
- [42] 周银芝, 夏淑芳, 段晓梅, 等. 高脂日粮对肥胖易感和肥胖抵抗小鼠骨性能的影响以及槲皮素的干预作用[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(7): 100-107.
- [43] WONG S K, CHIN K Y, IMA-NIRWANA S. The osteoprotective effects of kaempferol: the evidence from in vivo and in vitro studies[J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3497-3514.
- [44] 李冀, 李想, 曹明明, 等. 甘草药理作用及药对配伍比例研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(7): 83-87.
- [45] ZHAN J W, WANG S Q, FENG M S, et al. Constant compression decreases vascular bud and VEGFA expression in a rabbit vertebral endplate ex vivo culture model[J]. PLoS ONE, 2020, 15(6): e0234747.
- [46] 李晓春, 姜宏, 刘锦涛, 等. 血管内皮生长因子在突出椎间盘重吸收中的表达及其意义[J]. 颈腰痛杂志, 2011, 32(2): 88-91.
- [47] ALTUN I. Cytokine profile in degenerated painful intervertebral disc: variability with respect to duration of symptoms and type of disease[J]. The Spine Journal, 2016, 16(7): 857-861.
- [48] ZU B, PAN H, ZHANG X J, et al. Serum levels of the inflammatory cytokines in patients with lumbar radicular pain due to disc herniation[J]. Asian spine journal, 2016, 10(5): 843-849.
- [49] 王益敏, 易增兴, 林世清, 等. 脊髓背角胶质细胞及p38 MAPK参与介导髓核致炎大鼠神经根痛[J]. 中国疼痛医学杂志, 2018, 24(1): 14-23.

(编辑: 修春)