

· 数据挖掘 ·

脉络学说理论分析不稳定型心绞痛医案证治规律及 网络药理学机制分析

王康¹, 李雅文¹, 常丽萍², 尹玉洁², 朱焱³, 吴晨¹, 贾振华^{1,4*}

(1. 河北中医学院, 石家庄 050090; 2. 络病研究与创新中药国家重点实验室, 石家庄 050035;
3. 南京中医药大学, 南京 210029; 4. 河北以岭医院, 石家庄 050091)

[摘要] 目的:以脉络学说营卫理论为指导系统分析整理不稳定型心绞痛(UAP)现代医案,探析UAP证治规律,并利用网络药理学对证治规律中核心药对治疗UAP的分子机制进行分析。方法:通过PubMed,中国期刊全文数据库(CNKI),万方数据库(Wanfang Data),维普数据库(VIP),中国生物医学文献服务系统(SinoMed)数据库检索自建库至2020年11月所有中药复方治疗UAP相关医案,基于脉络学说营卫理论医案证候判定标准对医案进行证候判定,运用频数统计、系统聚类分析,FP-Growth加强关联分析等数据挖掘方法挖掘UAP证治规律,并利用网络药理学对证治规律中核心药对治疗UAP的分子机制进行分析。结果:研究显示UAP高频证候前4位依次为络气虚滞、瘀血阻络、络气郁滞及痰浊阻络,高频药物有丹参、甘草、川芎、黄芪等,主要药物以化瘀通络、益气固卫、理气解郁及祛痰通络药为主;药物关联规则得到UAP治疗核心药对丹参-川芎-黄芪;药物系统聚类共得到4组药物组合;网络药理学分析显示核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的关键成分有槲皮素、木犀草素、丹参酮Ⅱ_A等,其中关键靶点有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶B1(Akt1),丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1),Jun,白细胞介素-6(IL-6),丝裂原活化蛋白激酶8(MAPK8)。京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路分析显示磷脂酰肌醇-3激酶-丝氨酸/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路可能是其发挥治疗作用的主要途径。结论:UAP以络气虚(郁)滞、瘀痰阻络为基本病机;治疗以益气化瘀通络为基本治法,兼以理气化痰通络;核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的机制具有多成分、多靶点、多通路特点,研究结果为后续脉络学说指导UAP相关分子水平研究提供了思路。

[关键词] 脉络学说营卫理论; 不稳定型心绞痛(UAP); 数据挖掘; 网络药理学; 证治规律

[中图分类号] R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)16-0167-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211017

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210609.1352.002.html>

[网络出版日期] 2021-06-09 14:28

Rules of Syndrome and Treatment of Unstable Angina Pectoris Guided by Vessel-collateral Theory and Mechanism Analysis Based on Network Pharmacology

WANG Kang¹, LI Ya-wen¹, CHANG Li-ping², YIN Yu-jie², ZHU Yao³, WU Chen¹, JIA Zhen-hua^{1,4*}

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050090, China;

2. National Key Laboratory of Collateral Disease Research and
Innovative Traditional Chinese Medicine (TCM), Shijiazhuang 050035, China;

3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

4. Hebei Yiling Hospital, Shijiazhuang 050091, China)

[Abstract] **Objective:** Guided by nutrient-defense stages in the vessel-collateral theory, the modern medical cases of unstable angina pectoris(UAP) were systematically collated and analyzed to explore the rules of

[收稿日期] 20210301(002)

[基金项目] 国家重点研发计划“中医药现代化研究”重点专项(2017YFC1700501);国家自然科学基金项目(81973692);中国工程院咨询研究项目(2019-XY-81);河北中医学院2020年研究生创新项目(XCXZZBS2020010)

[第一作者] 王康,在读博士,从事心血管疾病研究,E-mail:1337206411@qq.com

[通信作者] *贾振华,博士,主任医师,博士生导师,从事心血管疾病研究,E-mail:jiatcm@163.com

syndrome and treatment of UAP and the molecular mechanism of core Chinese herbal combination in the treatment of UAP based on network pharmacology. **Method:** All medical cases with UAP treated by Chinese medicinal compounds were retrieved from PubMed, China National Knowledge Infrastructure (CNKI), Wanfang Data, VIP, and SinoMed published between database inception and November 2020. The syndromes of medical cases were determined based on the nutrient-defense stages of the vessel-collateral theory. Rules of syndrome and treatment of UAP were investigated by data mining methods, such as frequency statistics, cluster analysis, and enhanced FP-Growth algorithm. The molecular mechanism of core Chinese herbal combination in the treatment of UAP was analyzed by network pharmacology. **Result:** The first four syndromes of UAP with high frequencies were deficiency and stagnation of collateral Qi, blood stasis obstructing collaterals, depression and stagnation of collateral Qi, and turbid phlegm obstructing collaterals. The Chinese herbal medicines with high frequencies included *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*, *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*, *Chuanxiong Rhizoma*, and *Astragali Radix*, which were effective in resolving stasis, dredging collaterals, replenishing Qi, consolidating defensive Qi, regulating Qi, relieving depression, and dispelling phlegm. The association analysis indicated that the core Chinese herbal combination in the treatment of UAP was *Salviae Miltiorrhizae Radix Chuanxiong Rhizoma-Astragali Radix*. Four Chinese herbal combinations were obtained by cluster analysis. As revealed by network pharmacology, the key components of *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma-Chuanxiong Rhizoma-Astragali Radix* in the treatment of UAP included quercetin, luteolin, and tanshinone II_A, and the key targets included serine/threonine-protein kinase 1 (Akt1), mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1), Jun, interleukin (IL)-6, and MAPK8. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway analysis showed that phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway might serve as the main pathway for its therapeutic efficacy. **Conclusion:** The basic pathogenesis of UAP is deficiency/depression and stagnation of collateral qi and turbid phlegm obstructing collaterals. The treatment should follow the principles of replenishing Qi, resolving stasis, and dredging collaterals, assisted with regulating Qi and resolving phlegm. The therapeutic efficacy of *Salviae Miltiorrhizae Radix-Chuanxiong Rhizoma-Astragali Radix* was achieved via multi-component, multi-target, and multi-pathway. This study is expected to inspire future UAP-related studies at the molecular level based on vessel-collateral theory.

[Keywords] nutrient-defense stages of vessel-collateral theory; unstable angina pectoris (UAP); data mining; network pharmacology; rules of syndrome and treatment

不稳定型心绞痛(UAP)是急性冠脉综合征的一部分,是介于稳定型心绞痛和急性心肌梗死之间的临床心绞痛综合征^[1],该病发病率高、病情进展迅速,若控制不佳极易进展为急性心肌梗死及更严重心脏事件^[2]。目前,临床主要针对UAP的治疗手段,西医疗法是常规西药治疗包括抗血小板治疗、抗心肌缺血治疗、抗血栓治疗及调脂治疗等。但一方面其缓解作用较为有限,另一方面长期西药治疗造成的肝脏功能损伤及胃肠道反应不可忽视^[3-4]。UAP属于中医学“胸痹”“心痛”范畴,早在汉代张仲景就已提出“胸痹心痛”的病名,并对其病因病机、病位、病性、症状治疗进行了详细论述。吴以岭教授系统构建络病学说指导血管病变防治,提出其核心理论——营卫理论,从生理、病理、治疗和转归等方面揭示了血管病变发生发展规律,属重大理论创

新^[5]。并基于3 469例缺血性血管病患者的临床调查,建立“络-血管系统病”辨证诊断标准^[6-8],并归纳总结“络病学说调营卫气血治疗络病变用药规律”^[9]。UAP病位在心之络,属于络病变研究范畴,既往已基于络病学说营卫理论对冠心病心绞痛总体疾病证治规律进行了论述^[10],但UAP作为冠心病心绞痛中较凶险的类型,国内外尚缺乏对其证治规律的系统研究,故以络病学说营卫理论为指导探讨UAP证治规律对指导本病临床治疗具有重要意义。本研究基于UAP医案,利用频数分析、关联规则、聚类分析等数据挖掘技术,以络病学说指导探析本病证候规律及调营卫气血用药规律,最后利用网络药理学对本病的核心药对进行分析,探究其治疗UAP的分子机制,以期为本病的临床治疗及中药新药开发利用提供参考。

1 资料与方法

1.1 文献来源及检索方式 计算机检索中文数据库,包括中国期刊全文数据库(CNKI),万方数据库(Wanfang Data),维普数据库(VIP)和中国生物医学文献服务系统(SinoMed);英文数据库包括PubMed。以“心绞痛”“冠心病心绞痛”“中医”“中药”为关键词,英文检索词“angina”“coronary heart disease”“TCM”“complementary Medicine”“alternative Medicine”,检索时限为数据库建库至2020年11月,由2位研究者独立检索。

1.2 文献筛选 首先,通过NoteExpress进行文献查重;其次,通过阅读文献题目与摘要,排除综述类、药理研究类、动物试验类、方药机制类文献;最

终,通过阅读全文筛选包含UAP病案的临床医案类文献、临床对照实验文献及临床观察文献,由2位研究者独立筛选文献。

1.3 医案纳排标准

1.3.1 医案纳入标准 ①医案中的病例确诊为UAP;②使用中药治疗;③处方药物明确,疗效明显;④诊疗过程明确;⑤络学说营卫理论医案证候判定依据充足的医案。基于中华中医药学会颁布的“络-血管系统病”辨证诊断标准^[6-8]制定基于络学说营卫理论医案证候判定标准,对各医案进行证候判定,即在满足1个主证的基础上再满足1个主证或次证即可判断为该证候并予以纳入;判定依据不足的医案不予纳入,判定标准见表1。

表1 络学说营卫理论医案证候判定标准

Table 1 Criteria for syndrome determination of medical cases according to Yingwei Theory Vessel-collateral Theory

病机判定	主证	次证
卫气虚滞	乏力,短气,神疲,自汗	精神倦怠,少气懒言,胸闷
络气郁滞	胸中窒塞,情志抑郁,善太息	暖气,脉弦
卫阳不足	形寒肢冷,畏寒	面色苍白,得温痛减
卫气郁热	烦躁,面赤,口苦	口干渴,小便短赤,大便秘结,舌红苔黄,脉数,暖气,脉弦
营阴不足	颧红,五心烦热,盗汗	咽干,烦躁,舌红少苔,脉细数
营血亏虚	面色淡白或萎黄	爪甲无华,唇舌色淡,视物模糊
痰浊阻络	身体困重,体胖,痰多	多涎,苔腻,脉滑
瘀血阻络	口唇青紫,面色晦暗	痛有定处,舌紫暗,瘀斑,舌下络脉迂曲
水湿阻络	水肿	舌胖大,舌有齿痕

1.3.2 医案排除标准 ①重复发表的医案;②处方无用药组成或临床疗效不明确医案;③络学说营卫理论医案证候判定依据不足的医案。

1.4 数据库的建立 选取入选医案中的症状、方剂名称、药物组成等字段建立数据库,2人独立录入,对比结果,核对有无遗漏或错误。

1.5 数据预处理 针对医案中出现别字、明显的错字、漏字等研究性数据问题进行预处理,数据预处理过程实行双备份标记。

1.6 数据清洗 症状名称规范参照《中医内科学》^[11]和《实用中医诊断学》^[12]进行;中药名称规范参照2015年版《中华人民共和国药典》^[13]《中药学》^[14]进行。上述数据清洗过程参考《中医临床医案数据挖掘研究数据规范化标准》(QB/GL MCT 102-2019)进行。规范示例“胸中憋闷”→“胸闷”,“地鳖”→“土鳖虫”。

1.7 数据挖掘方法 本研究采用Medcase系统的XMiner V1.0中医药数据挖掘平台进行格式化和编

码,并根据文本特征计算数据权重,参考《中医临床医案数据挖掘研究数据分析操作标准》(QB/GL MCT 202-2019)执行系统常规极值处理,实时记录调参标值,基于FP-Growth加强关联分析算法及系统聚类方法进行挖掘运算,并进行数据可视化表达。

1.8 核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的网络药理学分析

1.8.1 核心药对有效活性成分收集与筛选 基于医案文献挖掘分析,确定UAP核心药对为丹参-川芎-黄芪。通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)数据库检索丹参、川芎和黄芪的化合物成分。成分筛选条件为口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18。此外,检索发表在中国知网、万方和PubMed等数据库中的文献,收集上述中药的其他有效生物活性的化学成分。

1.8.2 核心药对活性成分作用靶点收集 通过检索TCMSP数据库,收集丹参、川芎和黄芪活性成分

的作用靶点。最后,使用 UniProt 数据库中的 UniProKB 检索功能,剔除非人源作用靶点。

1.8.3 UAP 相关靶点基因的收集 以“Unstable angina pectoris”为关键词,在 GeneCards 数据库和美国国家生物信息中心(NCBI)基因数据库进行人类基因检索。其中, GeneCards 数据库根据数据库中 score 进行中位值的筛选以获得更相关的靶点。

1.8.4 核心药对作用靶点与 UAP 相关靶点 Venn 分析及网络构建 将筛选出的核心药对作用靶点与 UAP 相关靶点输入韦恩图制作软件 Venny 2.1 进行 Venn 分析,获得核心药对治疗 UAP 的潜在作用靶点(交集基因集)。

1.8.5 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析及关键靶点的筛选 将交集基因集导入 STRING 在线平台,选择“multiple proteins”分析模式,生物种类设定为“Homo sapiens”,可信度>0.7,获取蛋白与蛋白间相互作用信息,构建 PPI 网络。并将 PPI 网络导入 Cytoscape 3.8.0 中,通过 NetworkAnalyzer 工具进行拓扑分析,并根据度(degree)值大小筛选关键靶点。

1.8.6 核心药对活性成分-UAP 治疗靶点网络构建及关键成分筛选 运用 Cytoscape 3.8.0 进行核心药对活性成分-UAP 治疗靶点网络图绘制,并进行拓扑分析,将有效成分进行按 degree 值排序,排名前 10 位活性成分被筛选为关键成分。

1.8.7 基因本体(GO)生物富集分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路富集分析 GO 生物富集分析利用 STRING 在线平台,对核心药对丹参-川芎-黄芪治疗 UAP 的潜在作用靶点(交集基因集)进行 GO 生物过程富集分析,设定校正 $P \leq 0.05$ 筛选出排名靠前的生物过程,利用 R 3.6.3 软件加载软件包进行绘图。再通过 KEGG 信号通路富集分析,研究核心药对治疗 UAP 可能涉及的信号通路。物种限定为人类,设定校正 $P \leq 0.05$,按涉及的靶点数目进行排序,筛选排名靠前的信号通路,并用 R 3.6.3 软件加载软件包进行绘图。

1.8.8 核心药对有效成分-UAP 治疗靶点-通路网络 采用 Cytoscape 3.8.0 软件构建核心药对有效成分-UAP 治疗靶点-通路网络模型。更直观地展示丹参-川芎-黄芪有效成分在治疗 UAP 过程中的多成分-多靶点的作用特点。

2 结果

2.1 文献筛选情况 初步筛选出 UAP 文献共计 16 590 篇,将其导入 NoteExpress 3.2.0 中进行管理,经查重剔除 8 464 篇文献;进一步阅读题目、摘要及全文进行筛选,最终纳入含医案 UAP 文献 155 篇,涉及 UAP 医案 296 诊次,进一步剔除信息不全医案,最终纳入 UAP 医案 273 诊次,具体筛选流程见图 1。

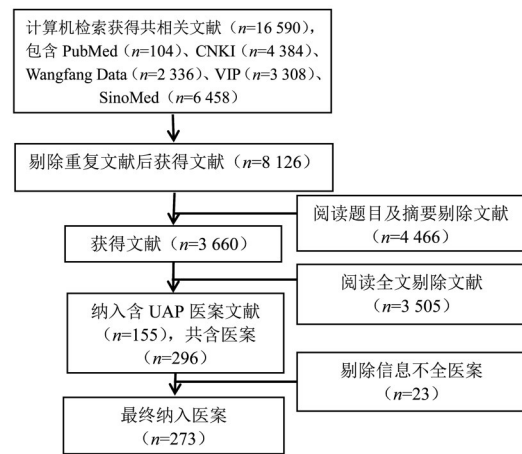


图1 医案筛选流程

Fig. 1 Medical case screening process

2.2 医案分布 本研究共纳入符合标准的医案 273 诊次,医案中记录在册的男性 172 例,女性 101 例,依据医案来源对医案进行质量分级,其中一级医案包括国医大师及院士医案 16 诊次(5.86%);二级医案包括国家级名老中医医案 13 诊次(4.76%);三级医案包括省级名中医医案,国家级学(分)会会长、副会长医案以及全国老中医药专家学术经验继承工作指导老师医案 119 诊次(43.59%),前三级医案累计占比 54.21%。见表 2。

表2 医案质量分级

Table 2 Quality grading of medical cases

分级	分级依据	医案数 /诊次	占比 /%	累计占 比/%
一级	国医大师经验;院士经验	16	5.86	5.86
二级	国家级名老中医	13	4.76	10.62
三级	省级名中医经验;国家级学(分)会会长、副会长经验;全国老中医药专家学术经验继承工作指导老师经验	119	43.59	54.21
四级	其他专家经验	125	45.79	100.00

2.3 UAP临床证候规律

2.3.1 UAP证候频数分析 基于络络学说营卫理论医案证候判定标准对UAP医案进行证候判定,前4位的高频病机为络气虚滞(152次,55.68%),瘀血阻络(117次,42.86%),络气郁滞(87次,31.87%),痰浊阻络(61次,22.34%)。见表3。

2.3.2 UAP证候关联规则 对UAP医案证候进行关联规则分析,设置支持度 ≥ 0.05 ,置信度 ≥ 0.3 ,得到关联规则7条,其中强关联规则主要集中于络气虚

表3 UAP证候分布情况

Table 3 Distribution of UAP syndromes

No.	病机	频数/次	频率/%	No.	病机	频数/次	频率/%
1	络气虚滞	152	55.68	5	营阴不足	32	11.72
2	瘀血阻络	117	42.86	6	卫气郁热	20	7.33
3	络气郁滞	87	31.87	7	营血亏虚	2	0.73
4	痰浊阻络	61	22.34	8	水湿阻络	1	0.37

滞、瘀血阻络、络气郁滞与痰浊阻络。见表4。

表4 UAP证候关联规则(支持度 ≥ 0.05 ,置信度 ≥ 0.3)

Table 4 Association rules for UAP syndromes(support ≥ 0.05 , confidence ≥ 0.3)

No.	规则项集	支持度	置信度	No.	规则项集	支持度	置信度
1	瘀血阻络 \rightarrow 络气虚滞	0.234 4	0.512 8	5	营阴不足 \rightarrow 络气虚滞	0.078 1	0.625 0
2	络气虚滞 \rightarrow 瘀血阻络	0.234 4	0.394 7	6	卫阳不足 \rightarrow 络气虚滞	0.058 6	0.375 0
3	痰浊阻络 \rightarrow 瘀血阻络	0.152 3	0.639 3	7	卫气郁热 \rightarrow 瘀血阻络	0.050 8	0.650 0
4	络气郁滞 \rightarrow 瘀血阻络	0.125 0	0.561 4				

2.4 UAP用药规律

2.4.1 UAP药物使用及调卫气营血功效分类统计 所纳入医案涉及中药228味;使用频次较高的药物有丹参、甘草、川芎、黄芪、半夏、茯苓等。依据既往研究归纳总结络络学说调营卫气血治疗络络病变用

药规律^[8],对使用频数 >40 次的药物进行调卫气营血药物功效分类,可见UAP用药以化瘀通络药(694次,29.26%),益气固卫药(613次,25.84%),理气解郁药(345次,14.54%),祛痰通络药(272次,11.47%)为主。见表5。

表5 UAP高频药物调营卫气血分类

Table 5 Classification of Ying Wei Qi and blood of UAP high-frequency drugs

功效分类	频数/次	频率/%	药物(频数/次)
化瘀通络药	694	29.26	丹参(173),川芎(147),红花(88),赤芍(88),桃仁(61),延胡索(51),三七(45),地龙(41)
益气固卫药	613	25.84	甘草(166),黄芪(138),白术(78),五味子(74),党参(71),人参(45),太子参(41)
理气解郁药	345	14.54	薤白(95),柴胡(55),郁金(53),枳壳(52),陈皮(48),枳实(42)
祛痰通络药	272	11.47	半夏(126),瓜蒌(105),桔梗(41)
补益营血药	243	10.24	当归(112),酸枣仁(78),白芍(53)
利湿通络药	117	4.93	茯苓(117)
养阴和营药	88	3.71	麦冬(88)

2.4.2 UAP药物聚类分析 将规范后的药物作为聚类变量,选取使用频数 ≥ 20 次的53味高频药物进行系统聚类分析共分为4类,见图2。第一类柴胡,降香,檀香,木香,砂仁,郁金,延胡索等;第二类黄芪,党参,白术,川芎,丹参,当归,红花,桃仁,赤芍等;第三类瓜蒌,薤白,半夏,陈皮,桔梗,三七,水蛭,地龙等;第四类麦冬,五味子,人参,太子参,山茱萸,山药,西洋参,天冬,生地黄,酸枣仁,附子,桂枝,龙骨,牡蛎等。

2.4.3 UAP药物关联规则 设定支持度 ≥ 0.25 ,置信度 ≥ 0.5 ,共得到药物关联规则20条(甘草相关规则

较多干扰其他药物规则拾取已去除),高关联药物配伍主要集中于川芎、丹参、黄芪等药物。见表6。

2.5 基于网络药理学UAP核心药对治疗机制分析

通过UAP相关文献挖掘分析,发现丹参、川芎、黄芪为除甘草(主要功效为调和诸药)外使用频率最高药物,关联规则也显示三药之间呈现高关联,且药物聚类分析也将三药聚为一类,共为益气化痰的重要药物,因此将丹参-川芎-黄芪确定为UAP治疗的核心药对。

2.5.1 有效活性成分筛选及活性成分潜在作用靶点的收集 通过TCMSP数据库按筛选条件检索丹

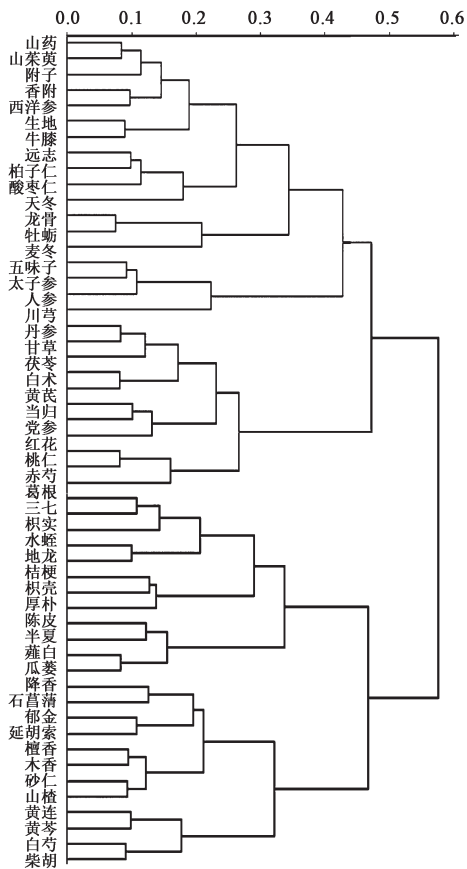


图2 UAP药物聚类

Fig. 2 Clustering diagram of UAP drugs

表6 UAP药物关联规则(支持度≥0.25,置信度≥0.5)

Table 6 UAP drug association rules (support≥0.25, confidence≥0.5)

No.	规则项集	支持度	置信度	No.	规则项集	支持度	置信度
1	川芎→丹参	0.388 3	0.721 1	11	半夏→瓜蒌	0.293 0	0.634 9
2	丹参→川芎	0.388 3	0.616 3	12	当归→黄芪	0.285 7	0.702 7
3	黄芪→丹参	0.340 7	0.673 9	13	黄芪→当归	0.285 7	0.565 2
4	丹参→黄芪	0.340 7	0.540 7	14	当归→川芎	0.274 7	0.675 7
5	黄芪→川芎	0.326 0	0.644 9	15	川芎→当归	0.274 7	0.510 2
6	川芎→黄芪	0.326 0	0.605 4	16	薤白→半夏	0.271 1	0.778 9
7	薤白→瓜蒌	0.311 4	0.894 7	17	茯苓→半夏	0.271 1	0.632 5
8	瓜蒌→薤白	0.311 4	0.817 3	18	半夏→薤白	0.271 1	0.587 3
9	茯苓→丹参	0.296 7	0.692 3	19	半夏→茯苓	0.271 1	0.587 3
10	瓜蒌→半夏	0.293 0	0.769 2	20	当归→丹参	0.267 4	0.657 7

参,川芎和黄芪的化合物成分,经汇总删重后,丹参获得64个化合物成分,130个靶点;川芎获得7个化合物成分,28个靶点;黄芪获得20个化合物成分,191个靶点。由于活性成分较多,每味药物仅列出7项。见表7。

2.5.2 UAP相关靶点收集 经检索,在GeneCards数据库检索到1650条相关基因,NCBI数据库获得

27个基因。将2个数据库的基因合并删重之后,得到1651个UAP相关基因。将筛选出的核心药对相关靶点与UAP靶点输入韦恩图制作软件Venny 2.1,得到交集基因集共包含155个共有靶点。

2.5.3 PPI网络分析及关键靶点筛选 PPI网络中包括155个节点,1165条边,平均度值为15,根据靶点度值大小筛选核心药对治疗UAP的关键靶点有蛋白激酶B1(Akt1),丝裂原活化蛋白激酶1(MAPK1),Jun,白细胞介素-6(IL-6),丝裂原活化蛋白激酶8(MAPK8)。见图3。

2.5.4 核心药对活性成分-UAP治疗靶点网络构建及关键成分筛选 运用Cytoscape 3.8.0进行核心药对活性成分-UAP治疗靶点网络图绘制,并进行拓扑分析,将活性成分按度值排序,将排名前10的成分被筛选为关键成分列入表8。

2.5.5 GO生物富集分析和KEGG信号通路富集分析 GO富集分析中细胞组分(CC)分析共富集70项细胞组分,主要包括膜筏(membrane raft),膜微结构域(membrane microdomain),膜区域(membrane region),蛋白激酶复合物(protein kinase complex)等;分子功能(MF)分析共富集159项分子功能,主要包括DNA结合转录因子结合,RNA聚合酶II-特异性DNA结合转录因子结合,细胞因子受体活性(cytokine receptor activity),激酶调节活性(kinase regulator activity);生物过程(BP)分析共富集到2349条生物过程,主要包括药物反应(response to drugs),细胞对化学物质的反应(cellular response to chemical stress),氧化应激反应(response to oxidative stress),金属离子反应(response to metal ion),脂多糖反应(response to lipopolysaccharide)。KEGG富集分析共富集到167条信号通路,主要包括磷脂酰肌醇-3激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)信号通路,人类巨细胞病毒感染,糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物(AGE)/糖基化终产物受体(RAGE)信号通路等。

2.5.6 核心药对活性成分-UAP治疗靶点-通路网络 采用Cytoscape 3.8.0软件构建核心药对有效活性成分-UAP治疗靶点-通路网络模型,涉及核心药对治疗UAP有效活性成分80个,包括槲皮素,木犀草素,山柰酚,丹参酮II_A,二氢丹参内酯,异鼠李素,7-O-甲基异丙醇胺,刺芒柄花素,隐丹参酮,杨梅酮等;涉及核心药对治疗UAP相关靶点154个,包括Akt1,MAPK1,Jun,MAPK8等;涉及到的核心药对治疗UAP相关信号通路有20条,包括PI3K/Akt信

表 7 核心药对部分活性成分信息

Table 7 Active ingredient information of core drug combination

中药	分子序列号	核心药对部分活性成分	OB/%	DL
丹参	MOL001601	四氢丹参酮 I 1,2,5,6-tetrahydrotanshinone	38.75	0.36
	MOL001942	异欧前胡素 isoimperatorin	45.46	0.23
	MOL002651	去氢丹参酮 II _A dehydrotanshinone II _A	43.76	0.40
	MOL007154	丹参酮 II _A tanshinone II _A	49.89	0.40
	MOL000006	木犀草素 luteolin	36.16	0.25
	MOL007100	二氢丹参内酯 dihydrotanshinlactone	38.68	0.32
	MOL007088	隐丹参酮 cryptotanshinone	52.34	0.40
川芎	MOL001494	亚油酸乙酯 mandenol	42.00	0.19
	MOL002135	杨梅酮 myricanone	40.60	0.51
	MOL002140	川芎嗪 perlolyrine	65.95	0.27
	MOL002151	洋川芎醌 senkyunone	47.66	0.24
	MOL002157	川芎萜内酯 wallichilide	42.31	0.71
	MOL000359	豆甾醇 sitosterol	36.91	0.75
	MOL000433	叶酸 folic acid	68.96	0.71
黄芪	MOL000392	刺芒柄花素 formononetin	69.67	0.21
	MOL000239	华良姜素 jaranol	50.83	0.29
	MOL000296	常春藤皂苷元 hederagenin	36.91	0.75
	MOL000098	槲皮素 quercetin	46.43	0.28
	MOL000354	异鼠李素 isorhamnetin	49.60	0.31
	MOL000378	7-O-甲基异丙醇胺 7-O-methylisomucronulatol	74.69	0.30
	MOL000422	山柰酚 kaempferol	41.88	0.24

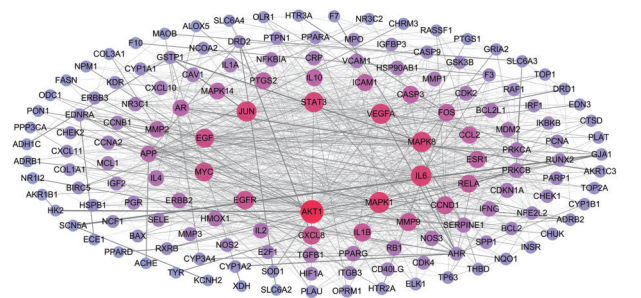


图 3 治疗 UAP 的靶点 PPI 网络分析

Fig. 3 PPI network analysis of target for treatment of UAP

号通路等。综上可知丹参、川芎、黄芪的有效活性成分治疗 UAP 具有多成分、多靶点、多通路等方面的特点。

3 讨论

3.1 基于络学说营卫理论分析 UAP 医案证候规律 既往构建络病证治体系,传承血脉理论,基于气血相关理论,系统构建络学说^[5],其核心理论营卫理论。《医宗金鉴》言:“卫即气中剽悍者也,荣即血中精粹者也,以其定位之体而言,则曰气血,以其流行之用而言,则曰营卫。”《黄帝内经·灵枢》营卫

表 8 核心药对关键成分

Table 8 Key components of the core drug portfolio

No.	分子序列号	丹参-川芎-黄芪药物关键成分	度值
1	MOL000098	槲皮素 quercetin	106
2	MOL000006	木犀草素 luteolin	45
3	MOL000422	山柰酚 kaempferol	35
4	MOL007154	丹参酮 IIA tanshinone iia	29
5	MOL007100	二氢丹参内酯 dihydrotanshinlactone	22
6	MOL000354	异鼠李素 isorhamnetin	21
7	MOL000378	7-O-甲基异丙醇胺 7-O-methylisomucronulatol	21
8	MOL000392	刺芒柄花素 formononetin	18
9	MOL007088	隐丹参酮 cryptotanshinone	18
10	MOL002135	杨梅酮 myricanone	17

生会言:“营在脉中,卫在脉外”,明确论述了营卫以气血之体与卫气相偕分布于血脉之内,卫行脉外主气属阳,主要循行于分肉肌肤腠理,发挥其温煦和固护作用;营行脉中主血属阴,随络脉内入脏腑,外达肢节,发挥其滋润营养作用。营卫相互为用保持气血在脉道内正常运行,共同发挥“和调五脏,洒

陈六腑”调节络脉血行的重要功能^[15]。营卫二气以气血之体,作流通之用,是人体阴阳平衡的基础。《黄帝内经·素问》调经论言:“血气不和,百病乃变化而生”,营卫气血失于和调流畅是诸多疾病发生发展的重要因素,络脉卫气不足,卫气郁闭则气血津液失于温煦推动以致运行不畅,营血亏虚则无以发挥渗灌濡养作用,营卫失常导致血凝不流,津停为痰,血滞为瘀,痰浊瘀血等病理产物阻滞络脉,可进一步加重络脉气机阻滞。

本研究基于络脉学说营卫理论指导UAP医案证候判定结果可见前4位的高频证候依次为络气虚滞、瘀血阻络、络气郁滞及痰浊阻络,且上述证候之间亦显示出较强关联性。既往基于络脉学说营卫理论对3469例缺血性血管病患者(包含403例为冠心病患者)的证候研究结果表明络气虚滞证占68.06%,血瘀证占58.11%,痰浊(热)证占42.66%,络气郁滞证占41.42%^[7],与本研究中UAP的证候分布结果基本一致,由此可见络气虚(郁)滞、痰瘀阻络为本病基本病机。

3.2 基于络脉学说营卫理论分析UAP医案用药规律 UAP用药规律研究显示,UAP高频药物为丹参、川芎、黄芪、半夏、茯苓、当归、瓜蒌、薤白等。药物调营卫气血功效分类以化痰通络药、益气固卫药、理气解郁药及祛痰通络药为主,高关联药物配伍亦主要集中于丹参、川芎、黄芪三药之间,可见丹参-川芎-黄芪为UAP治疗的核心药对。综上所述可见UAP以益气化痰通络为基本治法,兼以理气化痰通络。药物聚类将主要药物聚为4类:第一类以黄芪、党参、白术等益气固卫;以川芎、赤芍、红花、桃仁、当归等活血化瘀,以上药物可由益气化痰代表方补阳还五汤化裁而来,具有益气化痰通络之功,适用于络气虚滞、瘀血阻络证;第二类以柴胡、降香、檀香、木香、砂仁等行气解郁,以郁金、延胡索等理气活血通络,具有理气化痰通络之功,适用于络气郁滞、瘀血阻络证;第三类以瓜蒌、半夏、桔梗豁痰通络;以薤白、陈皮宽胸理气;以三七、水蛭、地龙等化痰通络,以上药物可由豁痰通络代表方瓜蒌薤白半夏汤化裁而来,诸药配伍可得祛痰化痰通络之功,适用于痰瘀阻络证;第四类以附子、桂枝等温阳祛寒,以龙骨、牡蛎等镇纳浮阳,以人参、麦冬、五味子、西洋参、酸枣仁等益卫养营复脉,该方可由桂甘龙牡汤及生脉汤化裁而来,诸药配伍可得益气温阳,荣养心络之功,适用于营卫两虚证。

3.3 核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的网络药

理学分析 根据核心药对活性成分-UAP治疗靶点网络筛选出核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的关键成分,其中,槲皮素通过抗氧化、抗炎等作用减轻冠心病心脏损伤^[16]。槲皮素和木犀草素可减少脂磷壁酸诱导的H9c2心肌细胞中细胞外调节蛋白激酶1/2(ERK1/2),c-Jun氨基末端激酶(JNK),p38 MAPK和Akt磷酸化和IL-1 β 基因表达,起到保护心肌细胞作用^[17]。杨梅酮具有调节糖脂质代谢、抗氧化等作用^[18-19]。丹参酮II_A可促进巨噬细胞自噬,减轻氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)引起的炎症损伤,调节IL-6表达以实现抗炎、抗动脉粥样硬化(AS)作用^[20-21],并能通过升高受损血管内皮细胞中蛋白一氧化氮合酶(eNOS)的表达含量,显著提高改善受损内皮血管细胞的存活率^[22]。

通过PPI分析显示Akt1,MAPK1,Jun,IL-6,MAPK8可能为核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的主要的作用靶点;KEGG信号通路富集分析显示PI3K/Akt信号通路可能是其防治UAP的主要通路。PI3K/Akt通路不仅可参与调控机体细胞生长、分化、增殖、凋亡等多种生物学过程,也是调控氧化应激反应和反应的主要通路,PI3K/Akt通路激活可通过促进超氧化物歧化酶(SOD)的表达,来抑制机体的氧化应激反应,保护冠脉内皮细胞功能提高心肌血供,缓解心肌细胞损伤^[23]。Akt1主要表达于心脑血管组织,其可通过调控一氧化氮(NO)产生,减轻缺血再灌引起的心肌细胞损伤^[24]。敲除Akt1基因可导致动脉粥样硬化小鼠模型血管平滑肌细胞增殖、迁移减少,氧化应激诱导的细胞凋亡增加,引起动脉粥样硬化加重,并增加斑块破裂风险^[25]。MAPK1基因又称为细胞外信号调节蛋白激酶2(ERK2)基因,参与调控机体细胞增殖、分化、转录调节等多种细胞进程^[26]。ERK2已被证明参与心脏发育和保护^[27]。ZHOU等^[28]研究表明抑制ERK1/2可显著增加ATP结合盒转运子A1(ABCA1)的表达,并导致巨噬细胞中胆固醇外流增加,从而减轻AS。CHEN等^[29]研究发现,抑制ERK1/2信号通路和激活肝X受体可能通过保护动脉完整性,增强胆固醇逆向转运并抑制巨噬细胞/泡沫细胞形成等多种机制延缓AS的进展。IL-6是一种细胞因子,调控多种炎症及免疫反应,应激可通过增加IL-6释放,促进AS进展^[30]。研究发现IL-6在UAP患者中增高,血清IL-6水平可作为UAP患者不良心血管事件的预测因子^[31-32]。c-Jun是激活蛋白1(AP-1)亚型之一,活化后可调控AS斑块内炎症细胞、血管平滑肌细胞及

内皮细胞内金属蛋白酶合成过程,从而促进AS斑块不稳定进程^[33]。MAPK8又被称为JNK1,是MAPKs家族的重要成员之一,在细胞增殖、分化、死亡及炎症等病理过程中起着重要调控作用^[34]。在急性冠脉综合征大鼠模型中,过表达的miR-330通过调控Wnt信号通路靶向降低MAPK8表达,抑制AS斑块的形成,促进血管内皮细胞增殖^[35]。GO富集分析,生物学过程主要与药物反应、细胞对化学物质的反应、氧化应激反应、金属离子反应、脂多糖反应相关,与上述通路介导的生物学过程相符。

综上,基于UAP医案数据挖掘及网络药理学分析,可见本病以络气虚(郁)滞、痰瘀阻络为基本病机;治疗以益气化痰通络为基本治法,兼以理气化痰通络。核心药对丹参-川芎-黄芪治疗UAP的机制具有多靶点、多通路特点,为后续络病学说指导UAP相关分子水平研究及新药研发提供了思路。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] TEGN N, ABDELNOOR M, AABERGE L, et al. Invasive versus conservative strategy in patients aged 80 years or older with non-ST-elevation myocardial infarction or unstable angina pectoris (After Eighty study): an open-label randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10023): 1057-1065.

[2] 张明明,王朝亮,张静,等. 探讨豁痰化瘀汤联合硝酸异山梨酯片治疗不稳定心绞痛的疗效[J]. *环球中医药*, 2021, 14(1): 162-165.

[3] 恽孝利. 阿司匹林临床应用的不良反应分析[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(27): 121-122.

[4] 王可仪,金鑫瑶,王虎城,等. 中医药治疗不稳定型心绞痛临床研究指标分析[J]. *天津中医药*, 2020, 37(10): 1150-1155.

[5] 吴以岭,贾振华,常丽萍,等. 络病学说营卫理论指导血管病变防治研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(1): 1-10.

[6] 贾振华,吴以岭,高怀林,等. “络-血管系统病”辨证诊断标准[J]. *中医杂志*, 2007, 48(11): 1027-1032.

[7] 贾振华,高怀林,谷春华,等. 基于3469例血管病患者证候分布规律的络病病变共性病机探讨[J]. *中医杂志*, 2009, 50(10): 920-924.

[8] 贾振华. “络-血管系统病”辨证诊断标准制定——中医辨证诊断标准定量方法学研究[J]. *疑难病杂志*, 2009, 8(5): 259-261.

[9] 李红蓉,贾振华,魏聪,等. 络病学说指导调和营卫气血治疗络病变方药数据挖掘及用药规律分析[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(1): 80-85.

[10] 常成成,袁国强,魏聪,等. 络病学说营卫理论指导冠心病心绞痛辨证论治[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(8): 837-840, 846.

[11] 周仲瑛. 中医内科学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2004.

[12] 郭振球. 实用中医诊断学[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2013.

[13] 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.

[14] 钟赣生. 中药学[M]. 9版. 北京:中国中医药出版社, 2012.

[15] 魏聪,贾振华,袁国强,等. 营卫学说历代沿革及其在“络-血管系统病”防治中的应用[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2011, 17(1): 26-28.

[16] 徐江林,林谦,刘静,等. 基于网络药理学和分子对接探讨槲皮素治疗冠心病的分子机制[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2020, 18(24): 4097-4103.

[17] GLORIA G V, CARLOS G B C. The flavonoids luteolin and quercetin inhibit lipoteichoic acid actions on H9c2 cardiomyocytes [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(9): 1003-1009.

[18] 夏淑芳,乐国伟,王鹏,等. 杨梅酮对高脂诱导的肥胖小鼠脂肪肝的预防作用[J]. *食品与生物技术学报*, 2017, 36(10): 1077-1082.

[19] 苏健裕,胡菡,吴萍,等. 杨梅酮的体外抗氧化及抗肿瘤活性[J]. *华南理工大学学报:自然科学版*, 2019, 47(3): 101-108, 152.

[20] CHEN W, LI X, GUO S, et al. Tanshinone II_A harmonizes the crosstalk of autophagy and polarization in macrophages via miR-375/KLF4 pathway to attenuate atherosclerosis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 70: 486-497.

[21] YANG C, LEI X, LI J. Tanshinone II_A reduces oxidized low-density lipoprotein-induced inflammatory responses by downregulating microRNA-33 in THP-1 macrophages [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(10): 3791-3798.

[22] 康渊强. 丹参酮II_A对缺氧所致内皮细胞的保护作用机制研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2019.

[23] 谭安安,陈晨. 长春西汀通过PI3K/AKT通路改善冠心病大鼠模型心肌氧化应激损伤的机制研究[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 12(9): 1114-1117.

[24] YING Z K, XIE Y, CHEN M J, et al. Alpha-lipoic acid activates eNOS through activation of PI3-kinase/Akt signaling pathway [J]. *Vascul Pharmacol*, 2015, 64: 28-35.

[25] C FERNANDEZHERNANDO, L JOZSEF, JENKINS D, et al. Absence of Akt1 reduces vascular smooth

- muscle cell migration and survival and induces features of plaque vulnerability and cardiac dysfunction during atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(12):2033-2040.
- [26] SEBOLT-LEOPOLD J S, HERRERA R. Targeting the mitogen-activated protein kinase cascade to treat cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(12):937-947.
- [27] WANG Y B. Mitogen-activated protein kinases in heart development and diseases [J]. *Circulation*, 2007, 116(12):1413-1423.
- [28] ZHOU X, YIN Z, GUO X, et al. Inhibition of ERK1/2 and activation of liver X receptor synergistically induce macrophage ABCA1 expression and cholesterol efflux. [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(9):6316-6326.
- [29] CHEN Y, DUAN Y, YANG X, et al. Inhibition of ERK1/2 and activation of LXR synergistically reduce atherosclerotic lesions in ApoE-deficient mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(4):948-959.
- [30] BERNBERG E, ULLERYD M A, JOHANSSON M E, et al. Social disruption stress increases IL-6 levels and accelerates atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice [J]. *Atherosclerosis*, 2012, 221(2):359-365.
- [31] 王育林, 杨向军, 宋建平, 等. 不稳定型心绞痛患者血中炎症标志物检测的意义 [J]. *江苏医药*, 2003, 29(10):784-785.
- [32] 李珍珍, 林祖近, 宋伟. 入院即刻 IL-6 对不稳定型心绞痛患者左心室射血分数和主要不良心血管事件的预测价值 [J]. *心电与循环*, 2019, 38(5):418-420, 424.
- [33] 张绍洁, 吴黎明. 冠心病患者外周血单个核细胞基质金属蛋白酶 9/组织型金属蛋白酶抑制剂 1 及磷酸化 c-Jun 蛋白表达改变与冠状动脉病变特征的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17(3):209-212.
- [34] KUMAR A, SINGH U K, KINI S G, et al. JNK pathway signaling: a novel and smarter therapeutic targets for various biological diseases [J]. *Future Med Chem*, 2015, 7(15):2065-2086.
- [35] REN J, MA R, ZHANG Z B, et al. Effects of microRNA-330 on vulnerable atherosclerotic plaques formation and vascular endothelial cell proliferation through the WNT signaling pathway in acute coronary syndrome [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(6):4514-4527.

[责任编辑 顾雪竹]