

基于数据挖掘技术从“补脾调肝法”探讨马君蓉教授治疗儿童抽动障碍用药经验

张霞,冉志玲,王君霞,马君蓉,余勇
(西南医科大学附属中医医院儿童诊疗中心,四川 泸州 646000)

【摘要】目的: 基于数据挖掘技术对马君蓉教授治疗儿童抽动障碍的用药经验进行归纳总结。**方法:** 选取 2018 年 1 月至 2022 年 12 月西南医科大学附属中医医院收治的儿童抽动障碍的病例数据为研究对象,利用 Microsoft Office Excel 2021、SPSS Modeler 18.0、SPSS Statistics 29.0 等软件对数据进行中药频次、中药属性、关联规则、聚类分析及数据可视化。根据结果进行网络药理学分析,利用 TCMSP、Batman-TCM、Genecards、OMIM、TTD 等数据库筛选获取核心中药活性成分及疾病相关靶点,运用 STRING 数据库和 Cytoscape 3.9.1 软件构建中药-活性成分-核心靶点及蛋白质互作网络图。运用 Metascape 数据库对交集靶点进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析。利用 AutoDock Vina 1.1.2 软件对筛选的主要活性成分及核心靶点进行分子对接,最后运用 PyMOL 2.4 软件进行可视化处理。**结果:** 共收录中药处方 1 095 张,涉及中药 161 种,药性以温性为主,药味多见辛、苦、甘,以肝经、脾经为主,功效类别则多见平肝息风药、补虚药、解表药。关联规则分析得到药物组合 216 对,聚类分析得到 4 组核心药物组合,功效以补脾柔肝、平肝息风、疏肝清热、滋阴活血为主。使用频次排名前 8 的中药有炙甘草、全蝎、柴胡、蜈蚣、郁金、伸筋草、钩藤、白芍,共筛选出核心活性成分 148 个及靶点 1 539 个,疾病靶点 2 472 个,交集靶点 396 个。GO 功能富集分析得到生物过程 1 199 条,细胞组成 171 条,分子功能 237 条,KEGG 通路 170 条。核心药物的主要活性成分诺卡酮、香芹酮、长叶薄荷酮等可能通过作用于 BDNF、AKT1、ALB 等核心靶点,调节神经活性配体-受体相互作用、cAMP、多巴胺能神经突触等多条信号通路,发挥治疗儿童抽动障碍的作用。分子对接结果显示,主要活性成分与核心靶点有较强的结合活性。**结论:** 马君蓉教授认为儿童抽动障碍属本虚(脾虚)标实(肝旺),应“从脾论治”,以“补脾调肝法”为指导,标本兼治,用药精和,为川南地区医务人员治疗儿童抽动障碍提供宝贵经验和思路。

【关键词】 抽动障碍;马君蓉;数据挖掘;作用机制;用药经验
【中图分类号】 R249 **【文献标志码】** A

Exploration on medication experience of Professor MA Junrong in treating tic disorders in children by the method of “spleen and liver leveling” based on data mining technology

ZHANG Xia,RAN Zhi-ling,WANG Jun-xia,MA Jun-rong,YU Yong
(1.Children's Diagnosis and Treatment Center,the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University,Luzhou 646000,Sichuan,China)

【Abstract】Objective: To explore Professor Ma Junrong's medication rules and mechanism in the treatment of children with tic disorder based on data mining and network pharmacology. **Methods:** Collected the case data of Professor Ma Junrong's treatment of children with tic disorder in the pediatric outpatient department of the Southwest Medical University Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital from January 2018 to December 2022,and use software such as Microsoft Office Excel 2021,SPSS Modeler 18.0,SPSS Statistics 29.0 to perform frequency analysis of traditional Chinese medicine,analysis of traditional Chinese medicine attributes,association rule analysis,clustering analysis,and data visualization. According to the results,network pharmacological analysis was conducted,and the core TCM active ingredients and disease-related targets were screened using databases such as TCMSP,Batman-TCM,Genecards,OMIM,and TTD. The network diagram of TCM-Active ingredient-Core target and protein interaction was constructed by using STRING database and Cytoscape 3.9.1 software. Perform GO function and KEGG pathway enrichment analysis on intersection targets using the Metascape database. AutoDock Vina 1.1.2 software was used for molecular docking of the main active ingredients and core targets,and finally PyMOL 2.4 software was

used for visualization processing. **Results:** A total of 1,095 traditional Chinese medicine prescriptions were collected, involving 161 types of traditional Chinese medicine. The drug properties were primarily warm, with flavors often seen as spicy, bitter, and sweet. The channels of entry were mainly the Ganjing and Pijing. The efficacy categories were primarily composed of Pingganxifengyao, Buxuyao, Jiebiaoyao. 216 pairs of drug combinations were obtained through association rule analysis, and 4 core drug combinations were obtained through cluster analysis. The main effects were Bupirougan, Pingganxifen, Shuganqingre, Ziyinhuoxue. The top 8 traditional Chinese medicines with the highest frequency of use were Zhigancao, Quanxie, Chaihu, Wugong, Yujin, Shenjincao, Gouteng, Baishao. A total of 148 core active ingredients and 1,539 targets were selected, with 2,472 disease targets and 396 intersection targets. GO functional enrichment analysis revealed 1,199 biological processes, 171 cellular compositions, 237 molecular functions, and 170 KEGG pathways. The main active components of core drugs, such as Nootkatone, Carvone and Pulegone, may regulate several signaling pathways such as Neuroactive ligand-receptor interaction, cAMP and Dopaminergic synapse by acting on core targets such as BDNF, AKT1 and ALB, and play a role in the treatment of tic disorders in children. The results of molecular docking showed that the main active ingredients had strong binding activity with the core target. **Conclusion:** Professor Ma Junrong believes that children's tic disorders belong to the original deficiency (spleen deficiency) and the standard (liver prosperity), which should be "treated from the spleen", guided by the "spleen and liver leveling method", treating both the symptoms and the root causes, and using the essence of medicine, so as to provide valuable experience and ideas for the medical staff in southern Sichuan to treat children's tic disorders.

【Key words】 Tic disorders; Ma junrong; Data mining; Mechanism of action; Medication experience

抽动障碍(tic disorders, TD)又称多发性抽动症、抽动-秽语综合征,是一种神经精神发育障碍性疾病,临床以反复发作的单一或者多部位的重复快速的、突发的、无节律刻板的运动抽动和/或发声抽动为主要特点,多表现为挤眉、眨眼、努嘴、喉间发声、点头、耸肩等。常常持续数年,多因情绪刺激、外界环境气候改变等因素致使病情加重或反复^[1]。TD好发于儿童,起病年龄2~21岁,多见于5~10岁^[2],男女比例为3~5:1^[3]。常伴有注意力缺陷多动障碍、学习困难甚至合并某些心理问题,严重危害患儿的身心健康^[4]。目前现代西医学对TD的治疗尚无统一标准^[5],多以控制临床症状为主,包括心理行为、神经调控及药物治疗,其中药物治疗因不良反应明显,服药时间较长,停药后容易反复等问题,让更多家属转而寻求中医药技术的帮助^[6]。古医籍无“抽动障碍”病名记载,中医学者根据其证候特点,将本病归属于“肝风”“抽搐”“瘈瘲”“筋惕肉瞤”等范畴。近年来随着中医药技术的不断发展,大量文献^[7]表明中医药治疗儿童TD优势明显,既安全,又可减少甚至完全控制抽动症状,降低复发率。

马君蓉教授是四川省名中医。近年来治疗TD的患儿逐年增加,约300~500例/年,因其运用中医药治疗儿童TD见解独特,临床疗效显著。故本研究通过对马君蓉教授治疗儿童TD的病例进行数据挖掘,深入探讨其治疗儿童TD的用药经验。

1 资料与方法

1.1 临床病例数据挖掘

1.1.1 数据来源 从西南医科大学附属中医医院门诊医生站(CIS5.5)中导出2018年1月至2022年

12月马君蓉教授治疗儿童TD的病例数据,其中包括患儿的一般情况、诊断、中药处方等信息。纳入标准:(1)患儿均来自川南地区(泸州、宜宾、自贡、内江);(2)符合中医、西医诊断标准:中医诊断标准参考《中医儿科学》^[8],西医诊断标准参考《儿童抽动障碍诊断与治疗专家共识(2017实用版)》;(3)年龄2~16岁;(4)病例资料信息完整详实;(5)就诊次数≥2次。排除标准:(1)治疗过程中出现严重不良反应或合并其他疾病(发热、腹泻等)而中断治疗者;(2)患儿有其他系统的严重疾病或其他儿童行为障碍疾病或精神类疾病者;(3)病例资料信息记录不完整者;(4)依从性差且拒绝服用中药者。

1.1.2 数据录入 经两名研究员筛选、整理病例后,再分别运用Microsoft Office Excel录入患儿的一般信息和中药处方,最后进行对照核实,建立马君蓉教授治疗儿童TD数据库。

1.1.3 数据规范化处理 参考《中华人民共和国药典(2020年版)》^[9]、《中华本草》^[10]、《中药学》^[11]对全部纳入的处方中药进行统一规范化处理。比如中药名称,“生地”规范为“生地黄”,“山萸肉”规范为“山茱萸”,“麸炒苍术”规范为“苍术”等。某些涉及多个炮制品种的中药,如“法半夏”与“姜半夏”,“甘草”与“炙甘草”,“生地黄”与“熟地黄”,功效差异较大,需分别统计。中药性味归经,如“微温”“微苦”“大寒”等统一为“温”“苦”“寒”等。而为与五行配属关系相对应,后世医家依据《黄帝内经》^[12]将“涩味”归为“酸味”,“淡味”归为“甘味”。

1.1.4 数据分析 运用Microsoft Office Excel对中药使用频次及中药属性进行统计,得到高频用药及性味归经分布情况。运用SPSS Modeler软件,

构建“数据源→类型→网络”数据流,得出药物组合复杂网络分析图,再利用 Apriori 算法,得出中药之间的关联规则,其中支持度表示所发现规则的有用性,置信度表示确定性^[13]。运用 SPSS Statistics 软件,方法为组间连接,以 Pearson 相关性为测量区间,对变量进行聚类分析。

1.2 网络药理学研究

1.2.1 中药-疾病靶点筛选 将数据挖掘得出的 8 种高频中药在 TCMSP(<https://tcmisp-e.com/>)、Batman-TCM(<http://bionet.ncpsb.org.cn/>)数据库中筛选出活性成分及靶点。以“Tic Disorders”为关键词,在 Genecards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://www.omim.org/>)及 TTD(<http://db.idrblab.net/>)数据库中获取疾病靶点。

1.2.2 “药物-活性成分-核心靶点”及蛋白质相互作用分析 运用 Venny(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/>)得到药物与疾病的交集靶点,生成韦恩图,再利用 Cytoscape 软件构建“药物-活性成分-核心靶点”关系网络图。运用 STRING(<https://cn.string-db.org>)数据库获取蛋白之间相互作用关系,然后利用 Cytoscape 进行可视化绘图。

1.2.3 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 采用 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库对交集靶点进行 GO 功能及 KEGG 通路富集分析,再利用 R 语言进行可视化分析。

1.3 分子对接分析

分子对接是一种预测分子(配体)与另一个分子(受体)结合的首选方法,有利于解释作用机制或对先导化合物进行筛选。本研究将网络药理学研究得到的核心中药主要活性成分及核心靶点,通过 PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、PDB 数据库(<http://www.rcsb.org/>)获取具体化学结构,运用 AutoDock Tools 软件进行分子对接,最后利用 PyMOL 软件进行可视化处理。

2 结果

2.1 临床病例数据挖掘

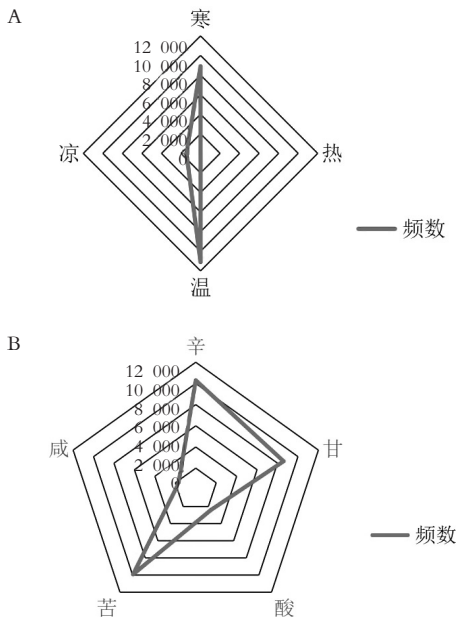
共获得儿童 TD 病例 1 546 例,经筛选整理出 1 095 张中药处方。其中男女比例约 6 : 1,年龄(7.8±2.5)岁。

2.1.1 中药频次分析结果 1 095 张处方共涉及中药 161 种,用药总频次达 21 407 次,使用频次≥50 次的药物有 67 种,其中排前 15 位的中药依次为炙甘草、全蝎、柴胡、蜈蚣、郁金、伸筋草、钩藤、白芍、酸枣仁、地龙、远志、菊花、南沙参、牛蒡子、石决明。见表 1。

表 1 马君蓉教授治疗 TD 中药频次分析(频次≥100 次)

药物	频次(次)	频率(%)	药物	频次(次)	频率(%)	药物	频次(次)	频率(%)
炙甘草	1 083	98.90	葛根	319	29.13	黄芪	179	16.35
全蝎	1 066	97.35	川芎	309	28.22	黄连	155	14.16
柴胡	1 056	96.44	香附	306	27.95	大枣	148	13.52
蜈蚣	1 050	95.89	防风	296	27.03	射干	142	12.97
郁金	1 042	95.16	苦杏仁	275	25.11	夏枯草	135	12.33
伸筋草	1 026	93.70	板蓝根	260	23.74	石斛	134	12.24
钩藤	1 001	91.42	牡蛎	245	22.37	茯苓	128	11.69
白芍	997	91.05	黄芩	226	20.64	广藿香	126	11.51
酸枣仁	965	88.13	舒筋草	222	20.27	苍耳子	123	11.23
地龙	789	72.05	前胡	217	19.82	天麻	121	11.05
远志	689	62.92	白术	215	19.63	法半夏	118	10.78
菊花	560	51.14	麻黄	214	19.54	淡竹叶	114	10.41
南沙参	498	45.48	石菖蒲	210	19.18	黄精	112	10.23
牛蒡子	474	43.29	麦冬	196	17.90	细辛	105	9.59
石决明	348	31.78	生地黄	189	17.26	益智仁	100	9.13
竹茹	344	31.42	僵蚕	183	16.71			

2.1.2 中药属性分析结果 1 095 张处方中,药性以温性最多(11 085 次),其次是寒性(8 878 次)、凉性(1 439 次)、热性(5 次)。见图 1A。药味总频数有 32 907 次,最多见于辛、苦、甘,其中辛味(10 292 次)、苦味(9 920 次)、甘味(8 591 次),随后为酸味(2 402 次)、咸味(1 702 次)。见图 1B。归经总频数有 53 653 次,以肝经最多(13 049 次),其次是脾经(9 985 次)、肺经(7 346 次)、心经(6 432 次),其余频数大于 3 000 次的还有胃经、胆经、肾经。见图 1C。功效类别以平肝息风药、补虚药、解表药出现的频数最多,依次为 4 804 次、4 007 次、3 511 次。见图 2。



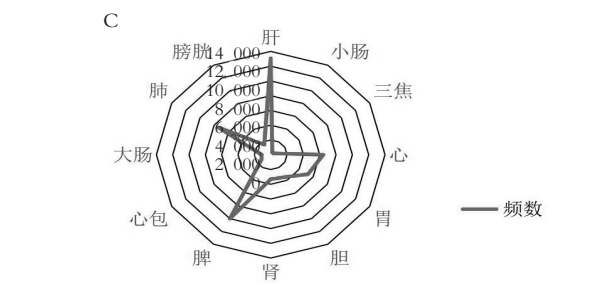


图 1 马君蓉教授治疗 TD 中药性味归经分析图

A. 四气统计;B. 五味统计;C. 归经统计。

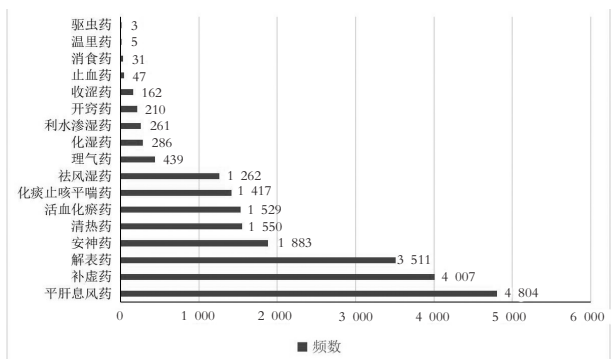


图 2 马君蓉教授治疗 TD 中药功效类别分析

2.1.3 关联规则分析结果 运用 SPSS Model-er18.0 软件,通过关联规则算法,分析“中药-中药”组合关系。1 095 张处方共有药物组合链接 1 200 种,设置显示的最大链接数为 80,可涉及药物 14 种。以这些中药为主要节点,各药物之间相互交织关联,得到药物组合网络分析图。见图 3。利用 Apriori 算法,得到药物组合关联规则,支持度表示“中药-中药”同时出现的频率,置信度表示“中药-中药”中前一/几味中药出现且后一味中药同时出现的概率。设置最低支持度为 90%,最小置信度为 90%,最大前项数为 5,可显示药物组合 216 对,涉及高频药物 8 种,其中高频药物组合中置信度为 1.00,有 7 组,伸筋草-蜈蚣-全蝎-蜈蚣-炙甘草-全蝎,蜈蚣-柴胡-全蝎,郁金-蜈蚣-全蝎,蜈蚣-柴胡-炙甘草-全蝎,郁金-蜈蚣-炙甘草-全蝎。高频药物组合按置信度由高到低排序(置信度 ≥ 0.98)。见表 2。

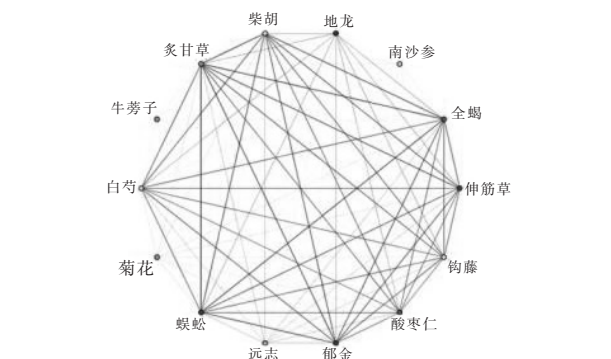


图 3 马君蓉教授治疗 TD 药物组合网络分析图

表 2 马君蓉教授治疗 TD 高频药物组合关联规则(置信度 ≥ 0.98)

序号	关联规则	置信度	序号	关联规则	置信度
1	伸筋草,蜈蚣→全蝎	1.00	21	郁金,全蝎,炙甘草→蜈蚣	0.99
2	蜈蚣→全蝎	1.00	22	伸筋草,柴胡→炙甘草	0.99
3	蜈蚣,炙甘草→全蝎	1.00	23	伸筋草→炙甘草	0.99
4	蜈蚣,柴胡→全蝎	1.00	24	伸筋草,全蝎→炙甘草	0.99
5	郁金,蜈蚣→全蝎	1.00	25	柴胡→炙甘草	0.99
6	蜈蚣,柴胡,炙甘草→全蝎	1.00	26	柴胡,全蝎→炙甘草	0.99
7	郁金,蜈蚣,炙甘草→全蝎	1.00	27	白芍→郁金	0.99
8	钩藤→炙甘草	0.99	28	白芍,炙甘草→郁金	0.99
9	郁金→炙甘草	0.99	29	伸筋草,全蝎,炙甘草→蜈蚣	0.98
10	郁金,柴胡→炙甘草	0.99	30	柴胡,全蝎,炙甘草→蜈蚣	0.98
11	郁金,全蝎→炙甘草	0.99	31	全蝎,炙甘草→蜈蚣	0.98
12	郁金,蜈蚣→炙甘草	0.99	32	白芍→柴胡	0.98
13	郁金,蜈蚣,全蝎→炙甘草	0.99	33	白芍,炙甘草→柴胡	0.98
14	白芍→炙甘草	0.99	34	伸筋草,全蝎→蜈蚣	0.98
15	伸筋草,蜈蚣→炙甘草	0.99	35	柴胡,全蝎→蜈蚣	0.98
16	蜈蚣,柴胡→甘草	0.99	36	全蝎→蜈蚣	0.98
17	蜈蚣,柴胡,全蝎→炙甘草	0.99	37	伸筋草→全蝎	0.98
18	蜈蚣→炙甘草	0.99	38	伸筋草,炙甘草→全蝎	0.98
19	蜈蚣,全蝎→炙甘草	0.99	39	伸筋草,柴胡→全蝎	0.98
20	郁金,全蝎→蜈蚣	0.99			

→表示因果关系。

2.1.4 聚类分析结果 1 095 张处方中使用频数 >300 次的 19 种高频药物,运用 SPSS Statistics 29.0 软件,通过系统聚类分析功能,设置组间连接法,以 Pearson 相关性度量标准,得到聚类分析树状图。其中横轴代表各药物间的距离,数字表示能分在一起的程度,同组数字越低说明分在一起的可能性越大且越合理,纵轴代表对应的药物。见图 4。进一步分析,可得出 4 组核心药物组合,功效分别概括为平肝息风、补脾柔肝、疏肝清热、滋阴活血。见表 3。

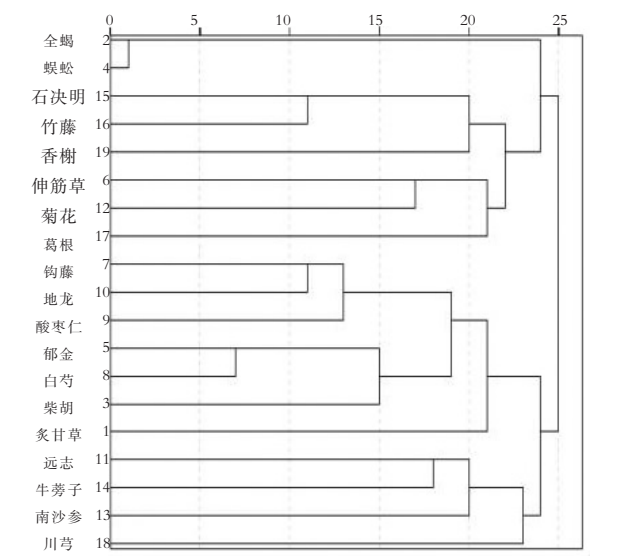


图 4 马君蓉教授治疗 TD 高频药物聚类分析树状图

表 3 马君蓉教授治疗 TD 4 组核心药物组合

序号	药物组合	功效
1	全蝎、蜈蚣	平肝息风
2	炙甘草、柴胡、白芍、郁金、酸枣仁、地龙、钩藤	补脾柔肝
3	石决明、竹茹、香附、伸筋草、菊花、葛根	疏肝清热
4	南沙参、远志、牛蒡子、川芎	滋阴活血

2.2 网络药理学分析核心中药作用机制

2.2.1 核心中药活性成分与靶点分析 基于数据挖掘结果,选取使用频数>90%的中药炙甘草、全蝎、柴胡、蜈蚣、郁金、伸筋草、钩藤、白芍为核心药物进行分析。运用 TCMSP 和 Batman-TCM 数据库进行检索。TCMSP,设置药物口服生物利用度(oral bioavailability, OB)>30%,类药性(drug-likeness, DL)>0.18,药物半衰期(half life, HL)>4 为条件筛选活性成分;并结合 SwissTargetPrediction (<https://www.SwissTargetPrediction.ch/>) 数据库查询对应基因名称。Batman-TCM,设置 score cutoff 为 20, Adjuste P-value 为 0.05,共同筛选去重后得出有效活性成分 148 个,靶点 1 539 个。以下列举了度值(Degree)≥70 的活性成分。见表 4。

表 4 马君蓉教授治疗 TD 核心药物的活性成分(Degree ≥70.0)

化学名称	中文名称	度值	来源
Nootkatone	诺卡酮	80	柴胡
Carvone	香芹酮	80	柴胡/郁金
Pulegone	长叶薄荷酮	79	柴胡
Turmerone	芳姜黄酮	79	郁金
Curdione	姜黄二酮	78	柴胡
N-Nonanol	壬醇	76	郁金
Corynanthine	柯楠质	70	钩藤

2.2.2 核心中药治疗 TD 的作用靶点分析 基于 Genecards、OMIM 及 TTD 数据库分别检索出 TD 相关靶点 1 920、617 及 0 个,经去重后有 2 472 个。运用 Venny 2.1.0 软件,将中药成分靶点与疾病靶点取交集,得到 396 个靶点。见图 5。再根据得到的交集靶点,使用 Cytoscape 3.9.1 软件,构建“中药-活性成分-核心靶点”网络图(包含 551 个节点,3 348 条边)。见图 6。

2.2.3 蛋白-蛋白相互作用关系分析 将 396 个交集靶点导入 STRING 数据库,按照数据库默认设置进行分析,得到蛋白质互作网络图(protein protein interaction, PPI)。运用 Cytoscape 3.9.1 软件,根据度值>33.78、介度中心性(Betweenness)>509.52 及接近中心性(Closeness)>0.01 制作出核心靶点网络图,涉及 89 个节点,1 492 条边,且靶点颜色越红则相互作用度越高。见图 7。

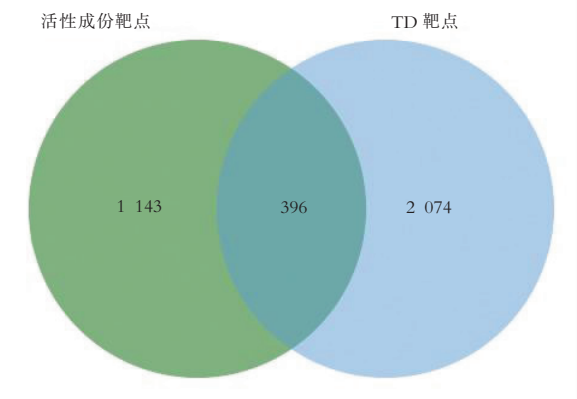


图 5 马君蓉教授治疗 TD 核心药物交集靶点韦恩图

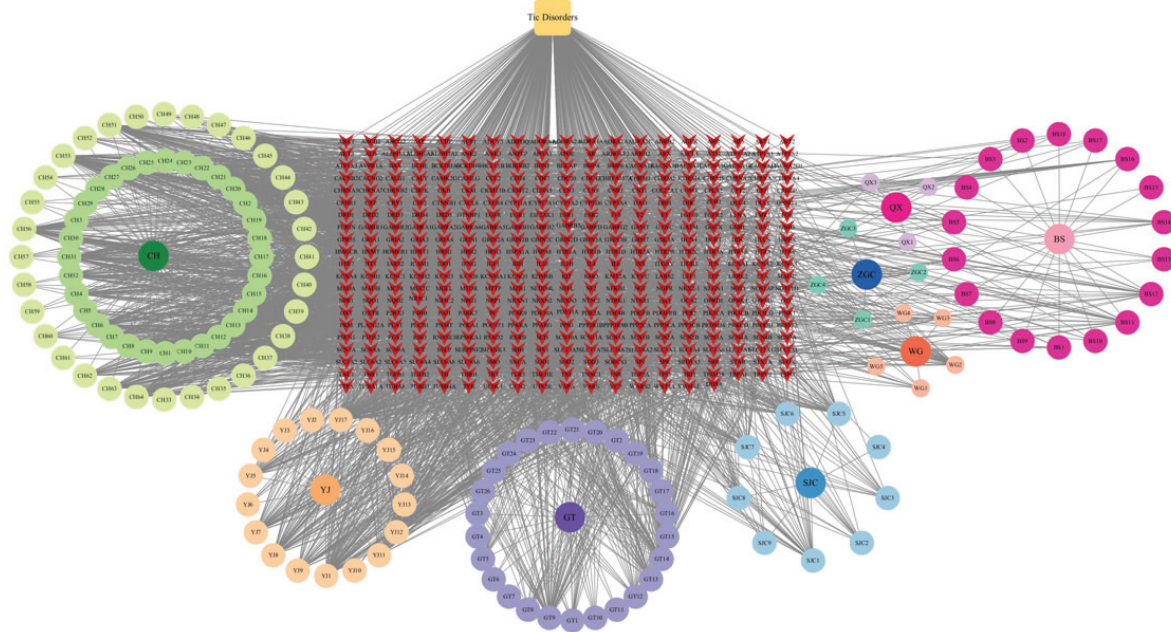


图 6 马君蓉教授治疗 TD 核心药物“中药-活性成分-核心靶点”网络图

ZGC:炙甘草;WG:蜈蚣;QX:全蝎;CH:柴胡;SJ:伸筋草;YJ:郁金;GT:钩藤;BS:白芍。

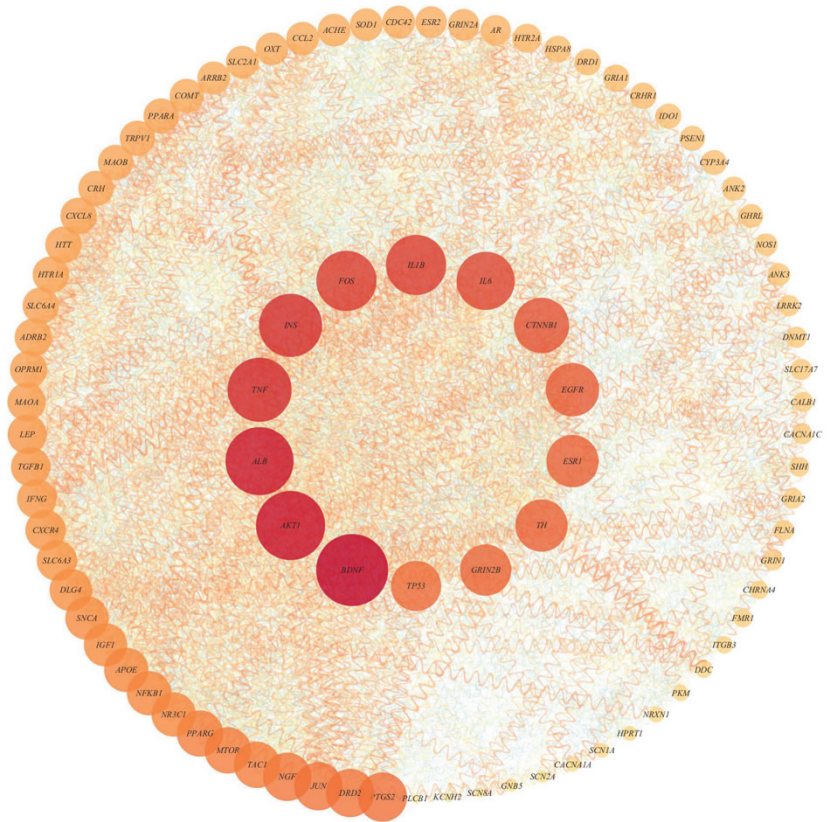


图 7 马君蓉教授治疗 TD 核心药物核心靶点网络图

2.2.4 GO 功能及 KEGG 通路富集分析 将 396 个交集靶点导入 DAVID 数据库,设置为“Homo Sapiens”后有 1 个靶点种属未知,最后得到 GO 功能富集数目 1 607 条。其中生物过程(BP)1 199 条,主要包括突触前/后膜电位调节、神经元或心肌细胞动作电位及 G 蛋白偶联受体信号通路等;细胞组成(CC)171 条,包括树突、轴突、突触及质膜等;分子功能(MF)237 条,包括突触前膜/后膜电位离子通

道活性、跨膜转运蛋白结合及神经递质受体活性等。分别选取前 10 条,利用 R 语言进行可视化绘图。见图 8。KEGG 通路 170 条,主要包括神经活性配体-受体相互作用、cAMP 信号通路、多巴胺能神经突触、钙信号通路及 MAPK 信号通路等。取 P 值前 25 绘制 KEGG 分析图,气泡越大表示该条目富集的基因数越多,颜色越红表示富集程度越显著。见图 9。

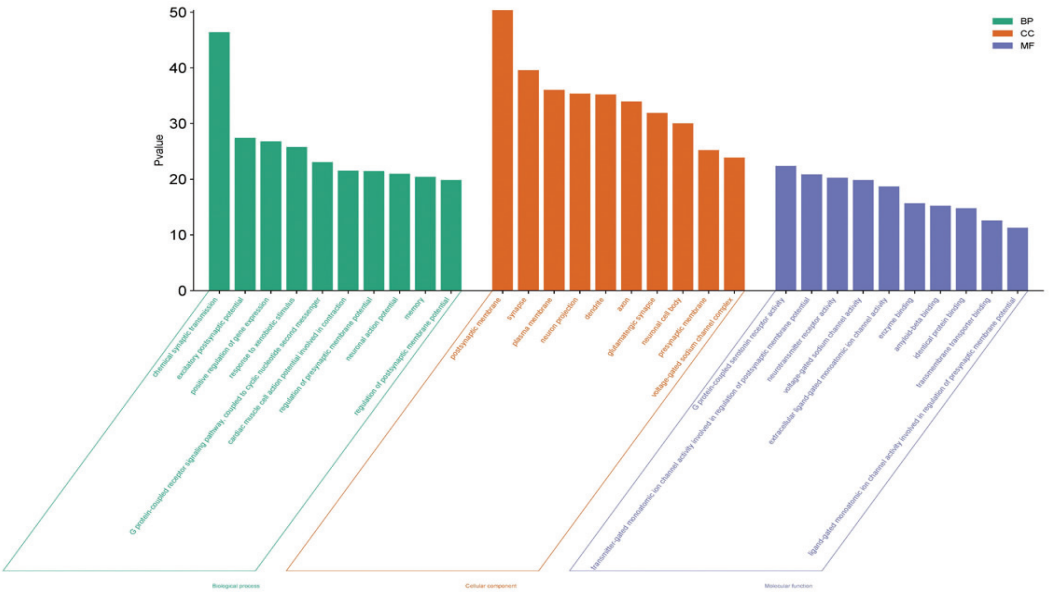


图 8 马君蓉教授治疗 TD 的 GO 功能富集分析图

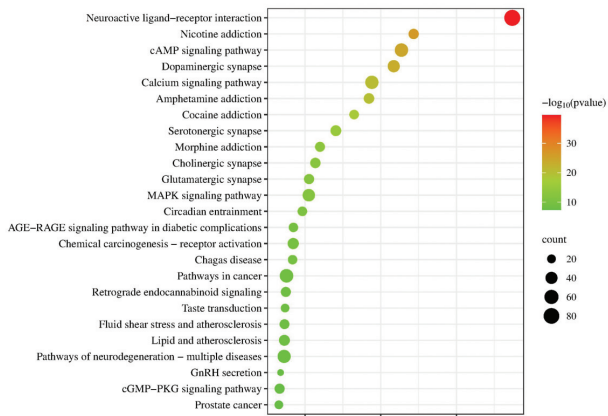


图 9 马君蓉教授治疗 TD 的 KEGG 通路富集分析图

2.3 分子对接结果分析

根据网络药理学研究结果,使用 AutoDock Vina 1.1.2 软件将交集靶点最多的 3 种活性成分 Nootkatone (PubChem CID: 1268142)、Carvone (PubChem CID: 7439)、Pulegone (PubChem CID: 442495)(表 4)分别与核心靶点网络图(图 7)中度值最高的 3 种蛋白质 BDNF (Uniprot ID: P23560)、AKT1 (Uniprot ID: P23560)、ALB (Uniprot ID: P02768)进行分子对接。利用 PyMol 2.4 软件完成蛋白质的前处理,AutoDock Tools 1.5.6 软件生成对接模拟的 PDBQT 文件,其他参数保持默认值,最后运用 PyMOL2.4 将结果进行可视化处理。见图 10。目前认为对接能量值小于-4.25 kcal/mol 表示两者间有一定的结合活性;小于-5.0 kcal/mol 表示有较好的结合活性;小于-7.0 kcal/mol 表示有强烈的结合活性^[14]。对接结果显示,本研究筛选的活性成分与蛋白质的结合主要通过氨基酸残基的疏水相互作用完成,通过结合能和疏水相互作用,说明三个活性成分与靶点之间有良好的结合活性和稳定性,其中诺卡酮与 AKT1 或 ALB 最甚。见表 5。

表 5 分子对接结合能及作用位点分析

靶点-活性成分	结合能(kcal/mol)	疏水相互作用
BDNF-Nootkatone	-6.1	Tyr 191A (3.73Å,3.73Å,3.72Å,3.35Å)
BDNF-Carvone	-5.4	Tyr 191A (3.61Å,3.41Å),Gln 207A (3.87Å)
BDNF-Pulegone	-5.5	Tyr 191A (3.88Å,3.51Å,3.64Å,3.60Å)
AKT1-Nootkatone	-7.1	Leu 156A (3.58Å,3.59Å),Val 164A (3.73Å), Tyr 229A (3.88Å),Asp 292A (3.68Å)
AKT1-Carvone	-5.7	Leu 156A (3.91Å,3.67Å),Val 164A (3.57Å), Ala 177A (3.75Å),Thr 211A (3.98Å),Ala 230A (3.91Å),Thr 291A (3.74Å),Phe 438A (3.53Å)
AKT1-Pulegone	-5.9	Leu 156A (3.78Å),Val 164A (3.71Å,3.64Å), Tyr 229A (3.50Å),Ala 177A (3.63Å),Thr 291A (3.71Å),Phe 438A (3.65Å)

续表 5

靶点-活性成分	结合能(kcal/mol)	疏水相互作用
ALB-Nootkatone	-7.4	Leu 371A (3.89Å,3.74Å),Val 506A (3.18Å, 3.90Å),Lys 375A (3.68Å),Leu 505A (3.86Å)
ALB-Carvone	-6.8	Ile 412A (3.63Å,3.98Å),Asn 415A (3.78Å), Leu 431A (3.45Å),Leu 454A (3.60Å),Ala 473A (3.67Å),Leu 477A (3.63Å,3.72Å)
ALB-Pulegone	-6.5	Tyr 162A (3.73Å),Ile 166A (3.41Å),Arg 210A (3.42Å)

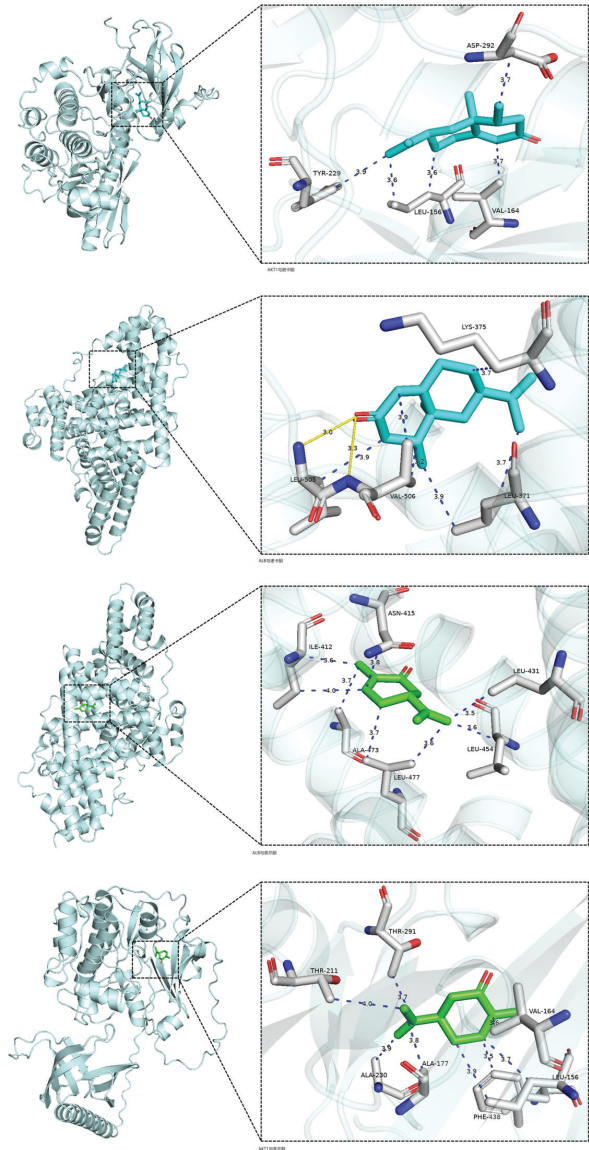


图 10 核心靶点与活性成分分子对接示意图

3 讨论

3.1 从脾论治

临证四十余载,马君蓉教授认为儿童 TD 既应加强精神心理治疗和调护,更应重视中医药治法^[15]。儿童 TD 病程较长,加之小儿“脾常不足,肝常有余”,马老认为该病与五脏关系密切,但以脾肝

两脏最重,属本虚(脾虚)标实(肝旺),强调“脾不足”是其发病的基础,从而提出“从脾论治”的证治思想。再基于“见肝之病,知肝传脾,当先实脾”的五行关系,指出调肝当先实脾,并慢慢形成了以“补脾调肝法”为特色的治疗手段。

“风为百病之长”,马老总认为儿童 TD 的病因以“风邪”占主导地位,病机以肝脾同病为核心。其中肝为刚脏,主疏泄,主筋藏魂,主人体生发之气。《活幼心书·惊癰鹤膝》云:“肝者,东方青龙木也。其动则应于风”。故风动首先责之于肝,小儿生机蓬勃,“肝常有余”,肝阳易旺,肝风易动,若肝条达疏泄失常,气机内郁,引动肝风,则可见皱眉、眨眼、喉中异声、四肢抖动等症。中焦脾胃乃后天之本,气血化生之源,主运化水谷精微物质。《小儿药证直诀》云:“脾主困,虚则吐泻生风”,小儿“脾常不足”,饮食不知自调,“饮食自倍,肠胃乃伤”,则脾胃虚弱,健运失司,气血生化乏源,不能正常濡养肝木,肝木亢而生风,可见抽动时发时止、反应迟钝、面色少华、纳差少语等症状。脾胃居中央灌四旁,与肝同居中焦,乃气机升降枢纽,若脾失健运,气机不畅,“脾土虚弱,清者难升,浊者难降,留中滞膈,凝聚为痰”,则水液内停成痰,而“百病多为痰作祟”,肝风挟痰可走窜全身,可加重抽动症状。再者川南地区,阳气盛,多雾露,气候温热潮湿,人长期处于湿热交结之中,易外感湿热邪气而致病。小儿为纯阳之体,脏腑娇嫩,行气未充,“肺常不足”,感邪后易化火生热,故由外邪牵动内风,风动更甚,则抽动症状愈加明显频繁,甚则演变成宿疾。经过多年临证经验,马老强调在儿童 TD 的中医治疗上应“从脾论治”,并以补脾为本,立足补脾以平肝、柔肝、疏肝、清肝,兼以宣肺解表,遣方用药精当平和,则脾胃康健,运化健旺,肝气疏达,以此达到调整人体阴阳平衡的目的。

3.2 用药规律

本研究通过数据挖掘分析马君蓉教授治疗儿童 TD 用药规律。根据用药频次分析,马教授治疗儿童 TD 排名前 10 位的中药主要功效包括补脾柔肝、平肝息风、疏肝清热、滋阴活血、祛风通络、宣肺解表等,其中频次最多者为炙甘草,炙甘草味甘性温,归脾、肺、心经,为补脾和胃、益气缓急之良药。《医学衷中参西录》云:“欲治肝者,原当升脾降胃,培养中宫,俾中宫气化、敦厚,以听肝木之自理”。马教授认为儿童 TD 本为肝脾同病,脾虚肝旺,因木赖土以培,故疏肝不忘实脾,视为正法。中药属性分析,以温性药物使用频次最多,药味以辛、苦、甘为主,多归肝、脾两经,肺经次之。《素问·脏气法时论篇》曰:“肝苦急,急食甘以缓之……脾苦湿,急食苦以燥

之”。肝喜条达恶抑郁,脾则喜燥恶湿,辛能散之,苦能燥之,甘味药不仅能补脾和中,还可缓肝气之急,加上“儿之初生,如木方萌,乃少阳生长之气渐壮有余”,却因小儿“肠胃脆薄,谷气未充,脾所不足”,故治法当顺应儿童生生之气,辛开甘补,辛开苦降,从而达到调肝理脾、抽动自止之效。根据关联规则分析,置信度最高的 2 个药对为伸筋草-蜈蚣→全蝎、蜈蚣→全蝎,支持度最高的 2 个药对为炙甘草→全蝎、炙甘草→柴胡。蜈蚣、全蝎与炙甘草为平肝息风药与补虚药配伍,兼以解表药,药药相合,可达平肝息风、补脾柔肝、祛风解表之功,且攻而不伤正,补而不留邪。吴鞠通言:“以食血之虫,飞者走络中气分,走者走络中血分,可谓无微不入,无坚不破”。马教授认为“风邪上下走窜,留于经络,须以虫蚁搜剔”,虫类药为血肉有情之品,具有攻逐走窜、搜风剔络之效,对治疗儿童 TD 效果极佳,但虫类药多具有毒性,易致过敏^[16],用时应强调以患儿安全为主,再依据药物所长,注重配伍和用药疗程,做到中病即止。中医认为“内伤脾胃,百病由生”,脾为后天之本,小儿“脾常不足”,易土虚木亢,故治疗上予以补虚药炙甘草补脾益气的同时还能柔肝缓急。然小儿“肺娇易遭伤,肺常不足”,解表药必不可少。《杂病源流犀烛·感冒源流》记载:“风邪袭人,不论何处感受,必内归于肺”,故给予解表药柴胡、伸筋草清热宣肺、祛风解表以达内外兼顾、平肝息风之效。聚类分析得出的 4 组核心药物组合。组合 1 为全蝎、蜈蚣。全蝎与蜈蚣均味辛,有毒,归肝经,属虫类药,可走窜攻逐全身,搜风剔络,为平肝息风、止痉通络的经典配伍。组合 2 为炙甘草、柴胡、白芍、郁金、酸枣仁、地龙、钩藤。肝为刚脏,炙甘草、白芍、酸枣仁三药合用可在补脾同时以柔制刚。“木郁达之”,治疗时还应注意疏肝畅气,故全组共奏补脾柔肝、疏肝清热、滋阴活血之功,则肝脾相合、肝风得息。组合 3 为石决明、竹茹、香附、伸筋草、菊花、葛根。小儿“肺常不足”,易感外邪,遣方用药当兼顾解表祛邪之法。《素灵微蕴》记载:“阴阳之升降必由左右,左右者,阴阳之道路也,右为肺金,左为肝木”。肝肺乃调畅全身气机的枢纽,故补脾同时应肝肺同治、内外兼清,故全组共奏疏肝清热、祛风解表、舒筋通络之功,则肝升肺降,抽动自止。组合 4 为南沙参、远志、牛蒡子、川芎。小儿“阳常有余,阴常不足”,感邪后多从热化,热盛则易伤阴扰神,遣方用药还当兼顾养阴安神之法,故全组共奏滋阴活血、养心安神、祛风行气之效,则肝心安宁,诸症自减。马老在治疗儿童 TD 上以“补脾调肝法”为指导,用药精和,并随症加减,则脾健肝平,抽动自止。

3.3 作用机制

将马教授治疗儿童抽动障碍的核心药物进行网络药理学分析发现,不同的中药中存在相同的活性成分,但不同的活性成分可作用于相同的靶点,这体现了中药复杂的作用机制。目前 TD 的发病机制尚不明确,普遍认为是遗传、免疫、心理和环境因素等共同作用的结果^[17]。研究^[18]表明,TD 可能与多种神经化学和神经递质异常有关,尤其是多巴胺能、肾上腺素能、 γ -氨基丁酸能和谷氨酸能通路。本研究构建的核心靶点网络图表明,核心药物治疗 TD 的重要靶点有 BDNF、AKT1、ALB、TNF 等,主要与神经递质有关。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)是一种体内含量最多并具有神经营养作用的蛋白质,广泛分布于中枢神经系统,与其特异性受体结合后能激活多条信号通路,从而在神经元生长、发育、分化,轴突树突生长,突触可塑性调节以及神经损伤后的再生修复等方面均发挥重要的作用^[19]。AKT1 作为 AKT 激酶家族的成员,在代谢、增殖、存活、生长等多种细胞过程中发挥着关键作用。研究^[20]发现,AKT1 可通过抑制炎症和保护神经元发挥止抽动作用,且对多巴胺的转运蛋白具有一定的调节作用^[21]。TD 的发病机制还与免疫功能异常有关^[22],且体内存在一定程度的炎症反应^[23]。TNF 是一种有效的促炎细胞因子和促神经源性因子,可激活 SAPK/JNK 通路,促进脑损伤后的神经元替换和脑修复^[24]。研究^[25]发现,TD 模型大鼠的血清和纹状体中 TNF、IL 等细胞因子的表达水平明显升高,提示这些细胞因子可能参与了 TD 的发病过程。ALB 在营养、体内代谢物质转运、抗氧化、清除自由基及调节血浆胶体渗透压等方面起着重要作用。此外,ALB 可促进小胶质细胞活化增殖后分泌促炎因子 IL、TNF 等,参与中枢神经系统的免疫炎症反应^[26]。通过 KEGG 分析得到的信号通路,主要包括神经活性配体-受体相互作用、cAMP 信号通路、多巴胺能神经突触等。神经活性配体-受体相互作用信号通路是质膜上所有和细胞内外信号通路相关的配体与受体的集合^[27],可通过调控神经递质对患儿学习、情绪、心理行为等产生影响,以达到治疗抽动障碍的目的^[28]。cAMP 信号通路是细胞内重要的次级信使系统,有很强的调节性,广泛参与多种生理过程,如在神经系统中,可促进神经元的突触传递和增强记忆形成。研究^[29]表明,清解止抽口服液能够明显改善 TD 模型大鼠的运动行为和刻板行为,调节 AC/cAMP/PKA 信

号通路代谢。目前众多学者^[30]认为,多巴胺系统功能失衡是导致 TD 的主要原因,多巴胺是人体内重要的神经递质之一,释放后与其受体结合会引起大脑皮质运动区兴奋或去抑制,从而使机体产生抽动症状。本研究分子对接结果显示,核心药物主要活性成分与核心靶点有较强的结合活性和稳定性,进一步证实核心药物的主要活性成分诺卡酮、香芹酮、长叶薄荷酮等可能通过作用于 BDNF、AKT1、ALB 等核心靶点,发挥治疗儿童 TD 的作用,为其治疗方向提供参考。

综上,马君蓉教授在儿童 TD 的治疗上强调“从脾论治”,立足“补脾调肝”之法,同时兼以宣肺解表、滋阴活血、养心安神等,遣方用药精当平和。通过数据挖掘技术分析了核心中药可通过重要靶点 BDNF、AKT1、ALB、TNF 等影响神经活性配体-受体相互作用、cAMP 信号通路、多巴胺能神经突触等信号通路以达到止抽动的效果,以此从分子蛋白等微观层面为中医药治疗抽动障碍提供依据,丰富了马君蓉教授治疗儿童 TD 的用药经验,为川南地区医务人员治疗儿童 TD 提供了重要参考和借鉴。

参考文献

- [1] 吴江,贾建平. 神经病学[M]. 第 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2015:309.
- [2] 中华医学会儿科学分会神经学组. 儿童抽动障碍的诊断与治疗建议[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(1): 72—75.
- [3] 中华医学会儿科学分会神经学组. 儿童抽动障碍诊断与治疗专家共识(2017 实用版)[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(15): 1137—1140.
- [4] 戎萍,马融,韩新民,等. 中医儿科临床诊疗指南·抽动障碍(修订)[J]. 中医儿科杂志, 2019, 15(6): 1—6.
- [5] Pringsheim T, Doja A, Gorman D, *et al.* Canadian guidelines for the evidence-based treatment of tic disorders: pharmacotherapy[J]. The Canadian Journal of Psychiatry, 2012, 57(3): 133—143.
- [6] 郭宁,李亚平. 儿童抽动障碍中医治疗研究进展[J]. 陕西中医, 2021, 42(7): 983—985.
- [7] 杨仙鸿,李贵平. 中医治疗小儿抽动症的临床研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2021, 40(12): 154—156.
- [8] 赵霞,李新民. 中医儿科学[M]. 第 5 版. 北京:中国中医药出版社, 2021:187—191.
- [9] 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, 2020.
- [10] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草-1[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999.
- [11] 钟赣生. 中药学[M]. 第 4 版. 北京:中国中医药出版社, 2016.
- [12] 姚春鹏. 黄帝内经[M]. 北京:中华书局, 2010.

(下转第 1535 页)

teraction): a Rome foundation working team report[J]. Gastroenterology, 2018, 154(4): 1140—1171. e1.

[9] Lai TT, Liou CW, Tsai YH, *et al.* Butterflies in the gut: the interplay between intestinal microbiota and stress[J]. Journal of Biomedical Science, 2023, 30(1): 92.

[10] Graham AS, Ben-Azu B, Tremblay Mè, *et al.* A review of the auditory-gut-brain axis[J]. Frontiers in Neuroscience, 2023, 17: 1183694.

[11] Simpson CA, Mu A, Haslam N, *et al.* Feeling down? A systematic review of the gut microbiota in anxiety/depression and irritable bowel syndrome[J]. Journal of Affective Disorders, 2020, 266: 429—446.

[12] Peter J, Fournier C, Durdevic M, *et al.* A microbial signature of psychological distress in irritable bowel syndrome[J]. Psychosomatic Medicine, 2018, 80(8): 698—709.

[13] Liu L, Wang H, Chen X, *et al.* Gut microbiota and its metabolites in depression: from pathogenesis to treatment[J]. EBioMedicine, 2023, 90: 104527.

[14] Fukui H. Increased intestinal permeability and decreased barrier function: does it really influence the risk of inflammation? [J]. Inflammatory Intestinal Diseases, 2016, 1(3): 135—145.

[15] Camilleri M. Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans[J]. Gut, 2019, 68(8): 1516—1526.

[16] 袁玮琪, 岳文胜, 刘燕清, 等. 胃肠超声造影定量评价高压力生活状态下大学生胃动力变化[J]. 中国医学影像技术, 2022, 38(2): 232—237.

[17] 李文艳, 顾鹏, 岳文胜, 等. 口服胃肠超声造影对焦虑症患者胃动力的评价[J]. 重庆医学, 2016, 45(20): 2798—2800.

[18] 黄丽华, 梁列新. 功能性消化不良与睡眠障碍的关系[J]. 临床消化病杂志, 2018, 30(2): 124—126.

[19] Bouchoucha M, Mary F, Bon C, *et al.* Sleep quality and functional gastrointestinal disorders. A psychological issue [J]. Journal of Digestive Diseases, 2018, 19(2): 84—92.

[20] 傅鹭华, 张文荣, 刘毅杰. 功能性消化不良与睡眠障碍的相关性分析[J]. 世界睡眠医学杂志, 2019, 6(8): 1049—1050.

(收稿日期: 2025—04—18 修回日期: 2025—06—22)

(上接第 1524 页)

[13] 李英, 汤庸. 基于关联规则与相似度的数据挖掘算法研究[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2021, 53(5): 121—127.

[14] 胡彬文, 段然, 张游璐, 等. 基于数据挖掘和网络药理学探讨杨丽新治疗抽动障碍用药规律和作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(2): 237—246.

[15] 李贵平, 马君蓉. 马君蓉教授治疗儿童多发性抽动症经验总结[J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(22): 123.

[16] 韦彦羽, 姚旗欢, 倪伟. 虫类药治疗变态反应性疾病的利与害[J]. 上海中医药大学学报, 2022, 36(2): 89—93, 100.

[17] 卢青, 孙丹, 刘智胜. 中国抽动障碍诊断和治疗专家共识解读[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021, 36(9): 647—653.

[18] Singer HS. Tics and Tourette syndrome[J]. Continuum, 2019, 25(4): 936—958.

[19] Bathina S, Das UN. Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications[J]. Archives of Medical Science, 2015, 6: 1164—1178.

[20] Vergadi E, Ieronymaki E, Lyroni K, *et al.* Akt signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization[J]. The Journal of Immunology, 2017, 198(3): 1006—1014.

[21] Speed NK, Matthies HJG, Kennedy JP, *et al.* Akt-dependent and isoform-specific regulation of dopamine transporter cell surface expression[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2010, 1(7): 476—481.

[22] 尤海珍, 孙克兴, 周一舫. 抽动障碍的免疫相关机制研究进展[J]. 教育生物学杂志, 2022, 10(3): 242—247.

[23] 范菲, 韩斐, 汪琼. 抽动障碍儿童血清 TNF- α 和 IL-6 的表达[J]. 江苏医药, 2017, 43(14): 1005—1007.

[24] Bernardino L, Agasse F, Silva B, *et al.* Tumor necrosis factor- α modulates survival, proliferation, and neuronal differentiation in neonatal subventricular zone cell cultures[J]. Stem Cells, 2008, 26(9): 2361—2371.

[25] 程艳, 黄爽, 冯艳静, 等. 止抽汤对抽动障碍模型大鼠抽动行为及 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的影响[J]. 云南中医学院学报, 2021, 44(4): 17—21.

[26] Kano H, Midorikawa Y, Song P, *et al.* High C-reactive protein/albumin ratio associated with reduced survival due to advanced stage of intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Bioscience Trends, 2020, 14(4): 304—309.

[27] Lauss M, Kriegner A, Vierlinger K, *et al.* Characterization of the drugged human genome[J]. Pharmacogenomics, 2007, 8(8): 1063—1073.

[28] Duan J, Yu Y, Li Y, *et al.* Low-dose exposure of silica nanoparticles induces cardiac dysfunction via neutrophil-mediated inflammation and cardiac contraction in zebrafish embryos[J]. Nanotoxicology, 2016, 10(5): 575—585.

[29] 丘梓桐, 谢静, 蔡子杰, 等. 清解止抽口服液对抽动障碍大鼠 AC/cAMP/PKA 信号通路的影响[J]. 中医药导报, 2023, 29(5): 22—26.

[30] 冯鹏, 史正刚, 孙治前, 等. 中医药调控神经递质治疗多发性抽动症的研究进展[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(2): 267—271.

(收稿日期: 2025—04—13 修回日期: 2025—06—11)