

基于网络药理学的丹芪通络方治疗颈椎病作用机制研究

张宛宜^{1,2}, 曾怡^{1,2}, 吕虹宇^{1,2}, 孙德利²

¹上海中医药大学研究生院, 上海

²上海中医药大学附属龙华医院针灸科, 上海

收稿日期: 2022年1月14日; 录用日期: 2022年3月3日; 发布日期: 2022年3月11日

摘要

目的: 基于网络药理学方法探讨丹芪通络方治疗颈椎病的潜在作用机制。方法: 采用TCMSP数据库筛选出丹芪通络方的活性成分, 使用Uni Prot系统预测及规范活性成分的潜在靶点; 使用Genecards、OMIM、Disgenet数据库检索颈椎病和颈椎综合征的相关靶点; 使用Cytoscape软件构建出药物与疾病靶点的蛋白质相互作用网络, 使用Merge功能提取二者的交集网络, 交集网络可能就是丹芪通络方治疗颈椎病的关键靶点; 使用Metascape网站对上述提取出的关键靶点进行GO和KEGG富集分析。结果: 获得有效成分226个, 药物靶点299个, 颈椎病相关靶点6704个, 最终得到关键靶点146个、KEGG通路364条。丹芪通络方治疗颈椎病主要成分可能为槲皮素、 β -谷甾醇、植物甾醇、山柰酚、木犀草素等, 涉及到的关键通路有癌症信号通路、IL-17信号通路、HIF-1信号通路、MAPK信号通路、p53信号通路等。结论: 本研究初步揭示了丹芪通络方多成分、多靶点、多途径治疗颈椎病的机制, 为临床治疗颈椎病提供了新方法。

关键词

网络药理学, 丹芪通络方, 颈椎病, 信号通路

Study on the Mechanism of Danqi Tongluo Recipe in Treating Cervical Spondylosis Based on Network Pharmacology

Wanyi Zhang^{1,2}, Yi Zeng^{1,2}, Hongyu Lyu^{1,2}, Deli Sun²

¹Graduate School of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

²Department of Acupuncture and Moxibustion, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

Abstract

Objective: To explore potential mechanism of Danqi Tongluo Recipe in treating cervical spondylosis based on network pharmacological method. **Methods:** Based on the TCMSP Chinese medicine system pharmacology database and analysis platform, the active components of Danqi Tongluo Recipe were obtained, and the target gene was predicted according to the Uni Prot system. The targets of cervical spondylosis and cervicobrachial syndrome were searched through databases of Genecards, OMIM and Disgenet. Cytoscape software was used to establish protein-protein interaction (PPI) networks of medicinal substances of Danqi Tongluo Recipe and cervical spondylosis. Enrichment analyses of GO and KEGG on the key targets were performed by Metascape. **Results:** There were 226 medicinal components, 299 medicinal targets, 6704 targets for cervical spondylosis, 146 key targets and 364 KEGG pathways. The main components of Danqi Tongluo Recipe in treating cervical spondylosis were quercetin, beta-sitosterol, stigmaterol, sitosterol, kaempferol, luteolin, etc. The key targets were HSPA8, RPS27A, RPS27, STAU1, etc. The key biological processes and pathways might include signaling pathways of pathways in cancer, IL-17 signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, MAPK signaling pathway, p53 signaling pathway, etc. **Conclusion:** This study preliminarily reveals a multiple component, target and pathway mechanism of Danqi Tongluo Recipe in treating cervical spondylosis. It provides a new idea for clinical drug prescriptions of cervical spondylosis.

Keywords

Network Pharmacology, Danqi Tongluo Recipe, Cervical Spondylosis, Signaling Pathway

Copyright © 2022 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

颈椎病是由于颈椎相邻椎体和椎体间盘形成的关节周围椎间盘退变而发生的非炎症过程。椎间盘退变和脊椎病的发展是正常衰老过程的一部分[1]。一项基于我国社区的调查研究显示颈椎病患病率为13.76%，发病率最高的是45~60岁年龄组[2]。颈椎病的常规治疗方法包括手术疗法、非手术疗法，手术疗法价格高昂、风险大，非手术治疗以止痛药、肌肉松弛剂、物理疗法、牵引、中药、针灸、推拿等为主[3]。其中中医药凭借其多方位、多靶点、多机制，毒副作用小等特点，在治疗颈椎病有显著优势和广阔前景。

中医学认为颈椎病属于“项痹”范畴，内因是由于气血亏虚，无法濡养筋骨；外因是劳累过度，起居不慎，风寒湿邪入侵，壅闭经络，导致气虚血瘀、经络不通，患者常感疼痛、麻木等症状[4]。丹芪通络方，是龙华医院孙德利副主任医师在多年临床诊疗中归纳总结出的经验方，由丹参、黄芪、当归、川芎、白芍、红花、党参、茯苓、白术、桂枝、葛根、骨碎补、威灵仙、延胡索、木香15味中药组成，具有益气活血通络之功效，治疗颈椎病临床效果显著。本研究利用中药复方网络药理学方法，探讨丹芪通络方的有效活性成分和潜在作用靶点，以了解其治疗颈椎病的作用机制，为临床治疗颈椎病应用提供新方法。

2. 资料与方法

2.1. 丹芪通络方所含成分的收集与筛选

丹芪通络方由 15 味中药组成, 分别是丹参、黄芪、党参、白术、茯苓、川芎、延胡索、木香、当归、白芍、红花、葛根、威灵仙、骨碎补、桂枝。通过中药药理学数据库 TCMSP [5] 收集以上 15 味中药的活性成分, 根据限定口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$ 和类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 [6] 筛选所有活性成分, 再根据文献报道对活性成分进行补充。

2.2. 丹芪通络方成分靶点预测

通过“2.1”中筛选出的活性成分的相关蛋白靶点, 使用 Uni Prot 数据库[7] (<https://www.uniprot.org/>) 将检索到的所有靶点蛋白的名称进行校正, 转换为官方基因名称(Official Symbol)。

2.3. 颈椎病相关基因靶点的筛选

通过 Gene Cards 数据库[8] (<http://www.genecards.org>)、OMIM 数据库[9] (<https://omim.org/>) 和 Dis Ge NET 数据库[10] (<http://www.disgenet.org>) 检索与颈椎病相关基因。分别使用检索词 Cervical Spondylosis (颈椎病) 和 Cervical Syndrome (颈椎综合征) 进行检索, 获取疾病相关基因。

2.4. 蛋白质互作网络构建及关键靶点筛选

利用韦恩图将丹芪通络方靶点基因与颈椎病相关基因进行合并, 形成的交集部分推测其可能是丹芪通络方活性成分治疗颈椎病的靶点基因。将丹芪通络方活性成分靶点与颈椎病靶点分别导入 Biso Genet 内, 各自生成 1 个蛋白质互作网络(protein-protein interaction, PPI), 通过 Cytoscape [11] 中的 Merge 功能提取上述 2 个蛋白质互作网络的交集网络从而得到关键靶点。

2.5. 通路富集分析

将上述关键靶点导入 Metascape 数据库[12] (<http://metascape.org>), 将物种设置为人类, 选择自定义分析(Custom Analysis)中的富集(Enrichment), 分别对于 GO Biological Processes、GO Molecular Functions、GO Cellular Components、KEGG Pathway 进行富集分析(Enrichment Analysis), 保存结果, 筛选排名靠前条目并进行可视化。

3. 结果

3.1. 丹芪通络方成分的收集与筛选

通过 TCMSP 数据库, 根据限定 OB $\geq 30\%$ 和 DL ≥ 0.18 收集丹芪通络方中符合条件的活性成分, 结果得到黄芪 20 种、丹参 65 种、党参 21 种、白术 7 种、茯苓 15 种、川芎 7 种、延胡索 49 种、木香 6 种、当归 2 种、白芍 13 种、红花 22 种、葛根 4 种、威灵仙 7 种、骨碎补 18 种、桂枝 7 种。所有化合物去重后共得到 226 种活性成分。

3.2. 丹芪通络方“活性成分-靶点”网络构建和分析

利用 Cytoscape 3.7.1 对丹芪通络方活性成分及其作用靶点的关系网络进行绘制和分析, 共获得 496 个节点与 4218 条关系, 结果见图 1。根据度值排名靠前的成分为槲皮素(Quercetin)、 β -谷甾醇(Beta-sitosterol)、谷甾醇(Sitosterol)、植物甾醇(Stigmasterol)、山柰酚(Kaempferol)、木犀草素(Luteolin)等, 表明这些化合物可能是丹芪通络方治疗颈椎病的主要活性成分。

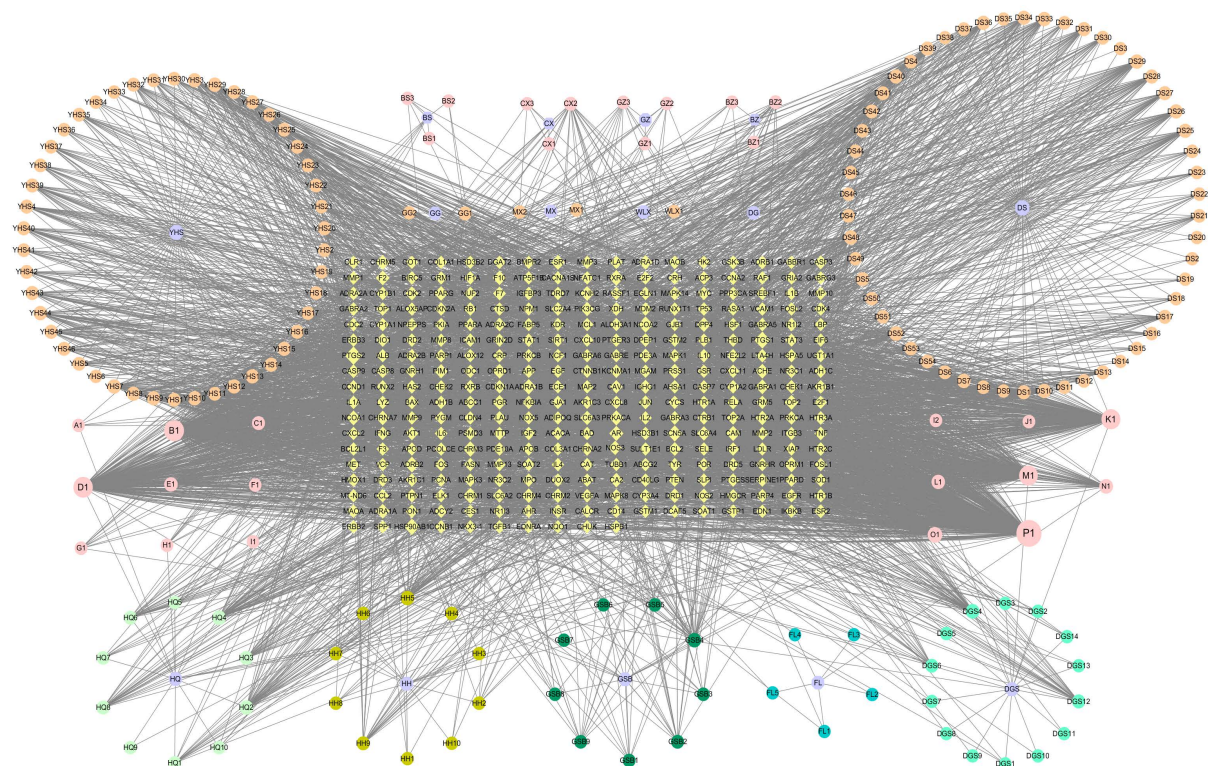


Figure 1. Danqi Tongluo Recipe active components-target network diagram
图 1. 丹芪通络方活性成分-靶点网络图

3.3. 丹芪通络方靶点预测

通过 TCMSPP 数据库检索丹芪通络方所含 226 种活性成分, 结果得到出 1466 个靶点, 其中黄芪 210 个、丹参 138 个、党参 110 个、白术 19 个、茯苓 23 个、川芎 30 个、延胡索 212 个、木香 32 个、当归 52 个、白芍 90 个、红花 215 个、葛根 67 个、威灵仙 52 个、骨碎补 166 个、桂枝 50 个。去重后共得到 299 个靶点, 通过 Uni Prot 数据库将靶点蛋白转换为官方名称(Official Symbol)。

3.4. 颈椎病相关基因靶点筛选

在 Gene Cards、OMIM 和 Dis Ge NET 数据库中以 Cervical Spondylosis (颈椎病)和 Cervical Syndrome (颈椎综合征)进行检索后, 分别获得 279、6565 个相关基因靶点, 删除重复后共得到 6704 个颈椎病相关基因。丹芪通络方靶点与颈椎病相关靶点交集为 243 个共同基因, 见图 2。

3.5. 丹芪通络方治疗颈椎病的 PPI 网络构建

3.5.1. 丹芪通络方治疗颈椎病的 PPI 网络绘制

运用 Cytoscape 分别构建丹芪通络方与颈椎病的 PPI 网络, 结果显示:丹芪通络方潜在靶点可与 8564 个靶点产生直接或间接作用, 其相互关系可达 188,537 种;与颈椎病直接或者间接相关的靶点有 8524 个, 靶点间相互联系可达 187,108 种。

3.5.2. 丹芪通络方治疗颈椎病关键靶点筛选

计算交集 PPI 的网络拓扑学特征属性值后, 进行 2 次筛选, 共获得关键靶点 146 个, 筛选过程见图 3。

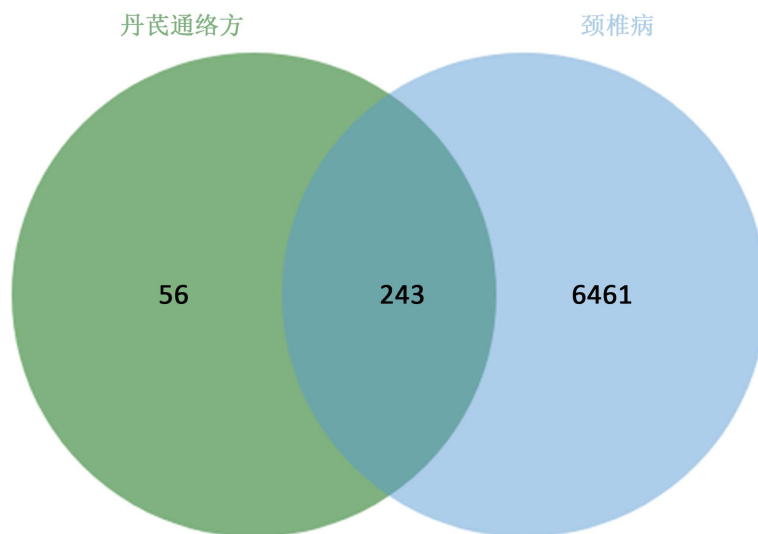
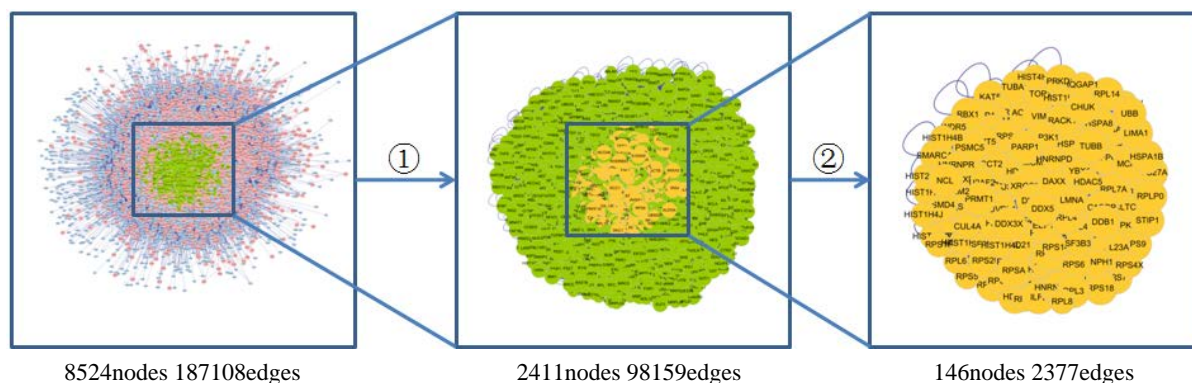


Figure 2. Distribution map of Danqi Tongluo Recipe targets and cervical spondylosis targets

图 2. 丹芪通络方靶点与颈椎病靶点分布图



① ‘DC’ > 46

② ‘DC’ > 156, ‘BC’ > 902.217, ‘CC’ > 0.469, ‘NC’ > 152.696, ‘LAC’ > 11.05

注：连接度中心性(DC)、紧密度中心性(CC)、介度中心性(BC)、网络中心性(NC)、局部边连通性(LAC)

Figure 3. Key nodes filter graph of Danqi Tongluo Recipe and cervical spondylosis

图 3. 丹芪通络方与颈椎病关键节点筛选图

3.6. 丹芪通络方治疗颈椎病通路富集分析可视化

利用 Metascape 平台对上述关键节点进行基因富集分析, 包括 GO 的 BP (biological process)、CC (cellular component)、MF (molecular function) 以及 KEGG 通路, 保存其结果, 并将其结果进行可视化。BP、CC、MF 结果见图 4~6; KEGG 通路结果见图 7。

4. 讨论

4.1. 丹芪通络方方解

随着社会工作方式的转变, 越来越多的人长期伏案工作, 颈椎病发病率逐渐增高。颈椎病属于古代文献记载“项痹”, 属于痹证范畴。《济生方·痹》中记载: “皆因体虚, 腠理空疏, 受风寒湿气而成痹也”。中医学认为痹证的发生的本质在于患者先天禀赋及后天调养不足, 内有气血亏虚, 气血不足,

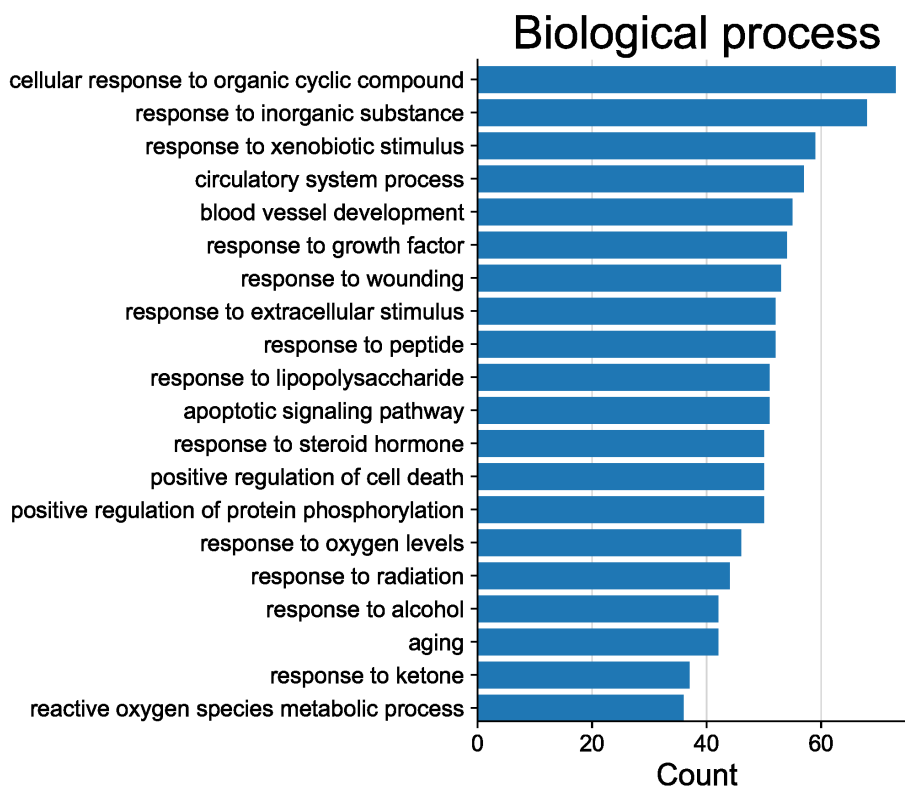


Figure 4. GO biological process
图 4. 生物进程

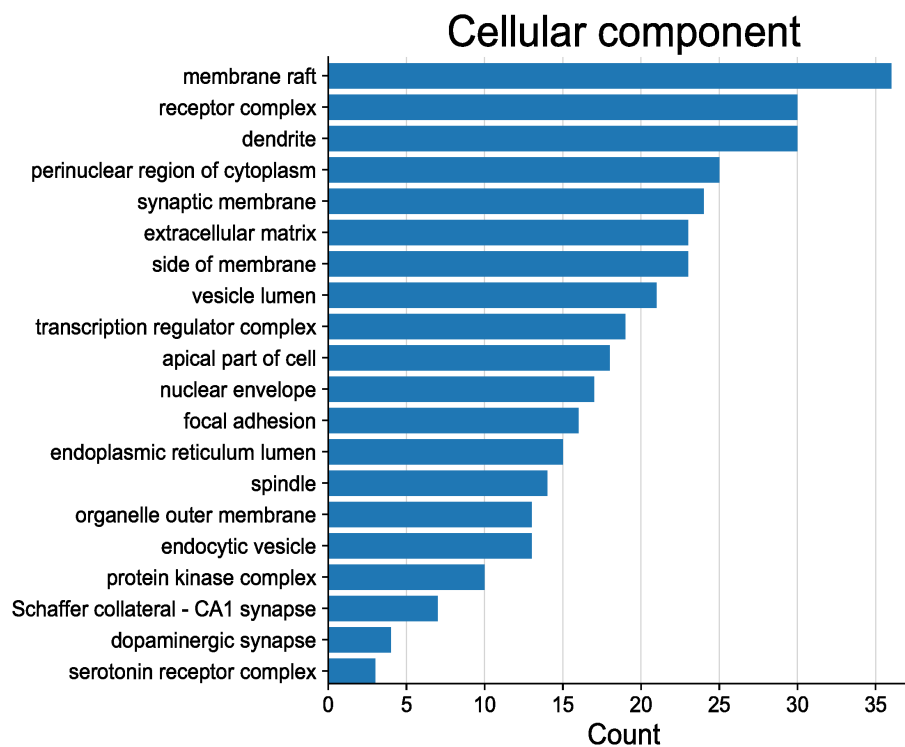


Figure 5. GO cellular component
图 5. 细胞组分

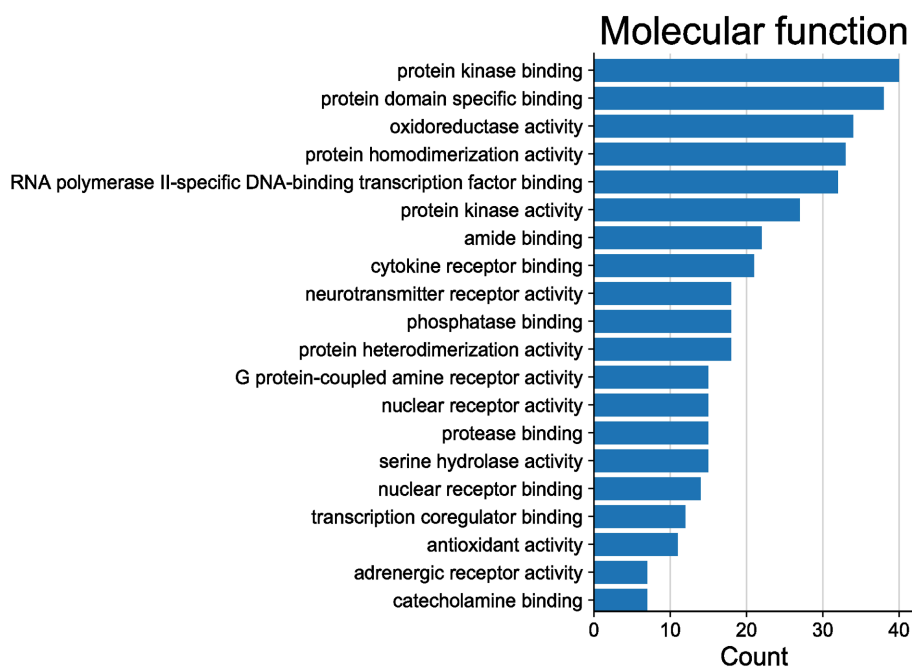


Figure 6. GO molecular function
图 6. 分子功能

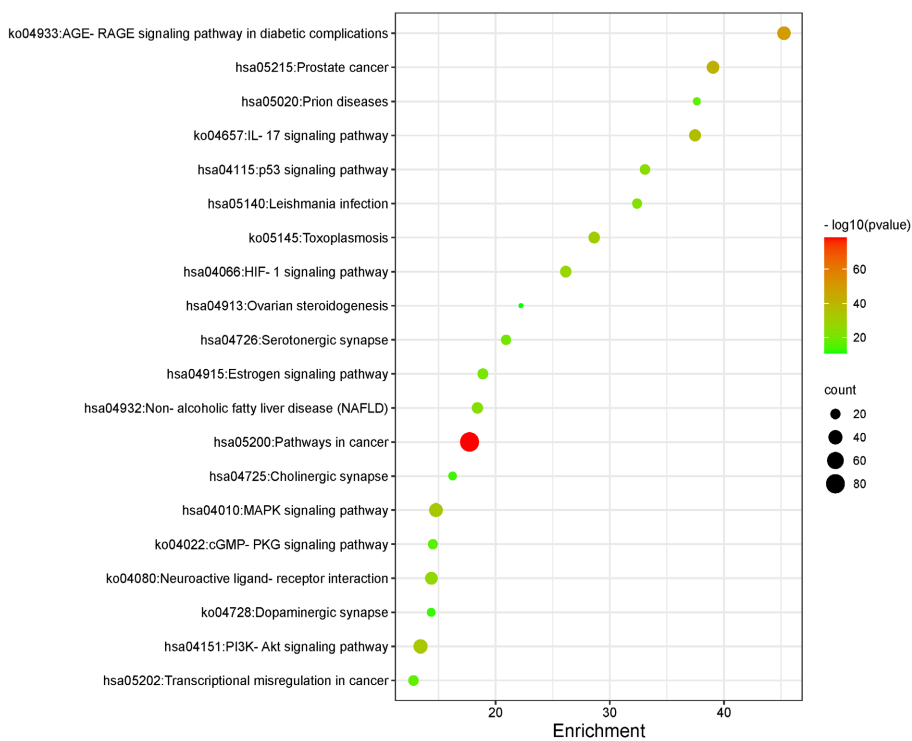


Figure 7. KEGG pathway enrichment analysis bubble plot
图 7. 丹芪通络方治疗颈椎病作用靶点富集气泡图

筋脉失于营养，易外受风寒湿等外邪侵袭，外邪客于颈项部经络，经络不通，故见颈肩关节疼痛，活动不利。痹病日久，经络受阻，经络不通则气血运行不畅，气不行血，则瘀血闭塞经络，进而引起颈项僵

硬、肢体刺痛等[13]。丹芪通络方中以黄芪、丹参为君药，甘温之黄芪，善补脾肺之气，脾主肌肉，故有补气生肌的作用，扶助升阳以助驱邪，有利于散寒；丹参味苦微寒，取其活血化瘀之效，配伍黄芪补气以推动血行，二者共奏益气活血之功效；研究表明此二者共用，能够通过 NF- κ B 信号通路、Wnt 信号转导通路和 JAK/ATAT 通路的调节，修复骨骼肌损伤[14]。党参健脾益气，扶正祛邪，治疗诸般虚证，有保护神经、抗炎、抗氧化、抗应激等作用[15]；白术健脾益气、燥湿利水，白术内酯具有抗炎活性，能够促进炎症巨噬细胞因子表达的改变[16]；茯苓利水渗湿，协助祛除体内寒湿，以上三者助力黄芪之益气之功。川芎为血中之气药，行气活血止痛，味辛行气开郁，活血止痛，具有抗炎镇痛、细胞保护等作用[17]；延胡索活血行气止痛，通过调节中枢神经系统、抗炎、解痉来起到止痛效果[18]；木香健脾行气止痛，以上三者共奏行气止痛之效。当归补血活血，在活血祛瘀的同时不伤血；红花有活血祛瘀止痛之功，红花单体成分具有保护成骨细胞的作用[19]，以上二者助力丹参之活血之功。以上诸药均为臣药。白芍养血和营通瘀，缓急止痛；威灵仙通经络，祛风湿，《海上集验方》称其“去众风，通十二脉”，对于风湿痹痛，肢体麻木，筋脉拘挛，屈伸不利皆有疗效，是治疗风湿痹痛之要药；骨碎补补肝肾，强筋骨，利关节，骨碎补总黄酮具有抗骨质疏松、促进骨折愈合、抗炎等作用[20]。以上是为佐药。葛根升阳解肌，缓解颈项强痛；桂枝通达营卫，疏通经络，引药循行直达病所，是为使药。全方共奏益气活血，祛风通络之功，兼有补肾，为攻补兼施之剂，于扶正祛邪当中，攻中有补，攻补兼施、标本兼治。

4.2. 丹芪通络方药物活性成分分析

度值排名第一的成分槲皮素(querletin)是黄芪、延胡索、红花的共有成分，拥有 154 个作用靶点，槲皮素具有抗炎的特性，作为 AMPK 和 SIRT1 激活剂，可能通过干扰 AMPK/SIRT1 通路减少炎症的发生[21]。槲皮素作为自由基清除剂，通过参与调节 PI3K/Akt、酪氨酸激酶、PKC 和 MAPK 等与认知、神经元相关的信号通路，抑制转录因子(AP-1, STAT-1, NF- κ B)和破坏膜脂筏的积聚来发挥抗氧化作用[21]。白芍、当归、葛根、骨碎补、桂枝、红花、威灵仙的共有化合物 β -谷甾醇(beta-sitosterol)度值排名第二，作用于 38 个靶点；植物甾醇(Stigmasterol)度值排名第五，是当归、党参、骨碎补、红花、木香、威灵仙、延胡索的共有化合物，作用于 31 个靶点；谷甾醇(sitosterol)是白芍、川芎、桂枝、木香、延胡索的共有化合物，作用于 3 个靶点。研究表明 β -谷甾醇能够抑制由 PGN, TNF- α 或 LPS(如 TNF)诱导的角质形成细胞和巨噬细胞分泌 TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 和 ROS，能够降低 NLRP3 炎症小体的关键成分 NLRP3 的表达，并抑制了 caspase-1 的活化[22]，还能够抵抗 IL-1 β 诱导的 NF- κ B 通路[23]。山柰酚(Kaempferol)度值排名第三，是白芍、骨碎补、红花、黄芪的共有化合物，作用于 63 个靶点，山柰酚是一种饮食生物类黄酮，普遍存在于各种类型的植物中。它通过抑制脂肪生成，炎症，氧化应激，破骨细胞自噬和成骨细胞凋亡，同时激活成骨细胞自噬来发挥抗氧化和抗炎活性作用。能够通过调节核因子- κ B (NF- κ B)，促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)等信号通路发挥抗骨老化的作用[24]。木犀草素(Luteolin)是丹参、党参、骨碎补的共有成分，度值排名第四，一种重要的黄酮类化合物，具有抗氧化、抗炎和神经保护作用，能够在免疫细胞中抑制细胞因子表达、核因子 κ B (NF κ B)信号和 TLR4 信号[25]。

君药黄芪含有黄芪多糖、黄芪总苷等多种成分。黄芪多糖能够降低患颈椎病大鼠的纤维环组织内 MMP2 和 MMP9 的表达水平，同时能够增高 TIMP2 表达水平，起到改善椎间盘退变的作用[26]。黄芪总苷能够显著降低颈椎间盘中细胞因子白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)的含量，减缓或改善椎间盘的退变[27] [28]。丹参成分丹参酮有 41 个靶点，能清除氧自由基、起抗氧化作用，从而清除炎症因子对机体血管的损伤，能够降低患者的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、干扰素 γ (IFN- γ)水平[29]。研究结果显示，丹参酮 I 能够抑制白细胞介素 1 β (IL-1 β)显著诱导 CHON-001 细胞凋亡、细胞外基质降解和炎症反应[30]。

4.3. 关键靶点结果分析

蛋白相互作用网络结果显示丹芪通络方作用于颈椎病的靶点间有复杂的交互关系。研究发现核心靶点 HSPA8 能够诱导神经退行性疾病相关蛋白的积累[31]。RPS27A 可能是触发神经退行性疾病的小胶质细胞激活的控制器[32]。RPS27 作为细胞对各种生长因子和其他环境信号的增殖反应的潜在重要介体而发挥作用, 能够与 DNA 中的 cAMP 反应元件特异性结合[33]。STAU1 的高表达会导致多种炎症和免疫反应基因的表达水平发生变化, 其会对与“神经生长因子受体信号通路”相关的基因产生显著的调节作用。说明其对于神经元的损伤后修复和再生具有重要意义[34]。

4.4. 通路与生物进程分析

GO 富集分析发现, 丹芪通络方治疗颈椎病主要涉及的生物学过程包括: cellular response to organic cyclic compound (细胞对有机环化合物的反应)、response to inorganic substance (对无机物的反应)、response to xenobiotic stimulus (对外来刺激的反应)、response to wounding (对受伤的反应)、apoptotic signaling pathway (凋亡信号通路)、positive regulation of cell death (积极调控细胞死亡)、response to oxygen levels (对氧气水平的反应)等。涉及的分子功能有 protein kinase binding (蛋白激酶结合)、protein domain specific binding (蛋白质结构域特异性结合)、oxidoreductase activity (氧化还原酶活性)、protein homodimerization activity (蛋白质均二聚活性)等。涉及的细胞组分有 membrane raft (膜筏)、receptor complex (受体复合体)、dendrite (树突)、perinuclear region of cytoplasm (细胞质的核周区域)、synaptic membrane (突触膜)等, 是一个复杂的过程。

通过 KEGG 生物途径富集分析发现, 有多条信号通路被显著富集。包括 Pathways in cancer (癌症的途径)、Transcriptional misregulation in cancer (癌症中的转录失调)、IL-17 signaling pathway (IL-17 信号通路)、HIF-1 signaling pathway (HIF-1 信号通路)、MAPK signaling pathway (MAPK 信号通路)、p53 signaling pathway (p53 信号通路)等, 因此推测丹芪通络方治疗颈椎病可能与上述通路关系密切。癌症信号通路(Pathways in cancer)及 Transcriptional misregulation in cancer (癌症中的转录失调)参与细胞的增殖、分化、运动、迁移等过程, 与细胞炎性反应、凋亡等生物功能相关联[35]。IL-17 信号通路中 IL-17A 是一种促炎性细胞因子, 也具有促进血管生成和破骨细胞生成的能力[36]。IL-17B 和 IL-17C 与 TNF- α 的产生有关, 与炎症相关[37]。HIF-1 是与细胞缺氧相关的信号通路[38] [39]。通用的丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路由四个不同的级联共享, 与细胞增殖, 分化, 迁移, 衰老和凋亡有关[40]。MAPK 信号通路能够促进炎细胞因子的表达, 并有效抑制人软骨细胞的凋亡[41]。椎间盘退变的发生可能激活 p53 信号通路[42] [43]。其他相关性较高的信号通路。其他信号通路目前尚未发现相关文献报道, 需要进一步探索, 以证实其作用机制。

5. 结语

综上所述, 丹芪通络方治疗颈椎病主要成分可能为槲皮素、 β -谷甾醇、植物甾醇、山柰酚、木犀草素、黄芪多糖、黄芪总苷、丹参酮等, 涉及到的关键通路有癌症信号通路、IL-17 信号通路、HIF-1 信号通路、MAPK 信号通路、p53 信号通路, 与细胞对有机环化合物的反应、对无机物的反应、对外来刺激的反应、凋亡信号通路、积极调控细胞死亡、对氧气水平的反应等多个生物学过程相关。因此推断丹芪通络方可能通过以上通路发挥治疗颈椎病的作用。本研究利用网络药理学方法对丹芪通络方治疗颈椎病的机制进行探讨, 发现此方包含多种活性成分, 涉及多种信号通路和生物过程, 体现了多成分、多靶点、多途径发挥作用的特点, 同时需要后续的研究, 为临床治疗颈椎病提供新的参考。

基金项目

2020~2021 年度上海市卫生健康委员会中医药科研项目计划(2020LP040), 上海中医药大学附属龙华

医院科技创新项目(CX202018)。

参考文献

- [1] Theodore, N. (2020) Degenerative Cervical Spondylosis. *New England Journal of Medicine*, **383**, 159-168.
- [2] Lv, Y.W., Tian, W., Chen, D.F., *et al.* (2018) The Prevalence and Associated Factors of Symptomatic Cervical Spondylosis in Chinese Adults: A Community-Based Cross-Sectional Study. *BMC Musculoskeletal Disorders*, **19**, Article No. 325. <https://doi.org/10.1186/s12891-018-2234-0>
- [3] Takagi, I., Eliyas, J.K. and Stadlan, N. (2011) Cervical Spondylosis: An Update on Pathophysiology, Clinical Manifestation, and Management Strategies. *Disease-a-Month*, **57**, 583-591. <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2011.08.024>
- [4] 于杰, 朱立国, 洪毅, 等. 中医综合疗法治疗神经根型颈椎病的疗效评价与长期随访[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(9): 11-13.
- [5] Ru, J.L., Li, P., Wang, J.N., *et al.* (2014) TCMSP: A Database of Systems Pharmacology for Drug Discovery from Herbal Medicines. *Journal of Cheminformatics*, **6**, Article No. 13. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-6-13>
- [6] Li, J.S., Zhao, P., Li, Y., *et al.* (2015) Systems Pharmacology-Based Dissection of Mechanisms of Chinese Medicinal Formula Bufeifei Yishen as an Effective Treatment for Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Science Report*, **5**, Article No. 15290. <https://doi.org/10.1038/srep15290>
- [7] Apweiler, R., Bairoch, A., Wu, C.H., *et al.* (2004) UniProt: The Universal Protein Knowledgebase. *Nucleic Acids Research*, **32**, D115-D119. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh131>
- [8] Safran, M., Dalah, I., Alexander, J., *et al.* (2010) Gene Cards Version 3: The Human Gene Integrator. *Database*, **2010**, Article ID: baq020. <https://doi.org/10.1093/database/baq020>
- [9] Amberger, J.S., Bocchini, C.A., Schiettecatte, F., *et al.* (2015) OMIM.org: Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM®), an Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. *Nucleic Acids Research*, **43**, D789-D798. <https://doi.org/10.1093/nar/gku1205>
- [10] Piñero, J., Bravo, À., Queralt-Rosinach, N., *et al.* (2017) DisGeNET: A Comprehensive Platform Integrating Information on Human Disease-Associated Genes and Variants. *Nucleic Acids Research*, **45**, D833-D839. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw943>
- [11] Otasek, D., Morris, J.H., Bouças, J., *et al.* (2019) Cytoscape Automation: Empowering Workflow-Based Network Analysis. *Genome Biology*, **20**, Article No. 185. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1758-4>
- [12] Zhou, Y.Y., Zhou, B., Pache, L., *et al.* (2019) Metascape Provides a Biologist-Oriented Resource for the Analysis of Systems-Level Datasets. *Nature Communications*, **10**, Article No. 1523. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09234-6>
- [13] 赵明新. 活血通络汤内服联合活络术治疗气虚血瘀证神经根型颈椎病 99 例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 181-185.
- [14] 张冬, 李爱平, 李科, 等. 黄芪丹参药对配伍机制的研究进展[J]. 山西中医药大学学报, 2021, 22(1): 70-74.
- [15] 谢琦, 程雪梅, 胡芳弟, 等. 党参化学成分、药理作用及质量[J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(8): 94-104.
- [16] 左军, 张金龙, 胡晓阳. 白术的化学成分及现代药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 23(10): 6-9. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1543.R.20210419.1116.007.html>
- [17] 张晓娟, 张燕丽, 左冬冬. 川芎的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(6): 128-133.
- [18] 张天龙, 赵继荣, 陈祁青, 等. 延胡索化学成分及镇痛作用机制研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(5): 141-144.
- [19] 李馨蕊, 刘娟, 彭成, 等. 红花化学成分及药理活性研究进展[J]. 成都中医药大学学报, 2021, 44(1): 102-112.
- [20] 顺清, 梁伟, 张雪妹, 等. 骨碎补化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 46(11): 2737-2745. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20210222.602>
- [21] Carullo, G., Cappello, A.R., Frattaruolo, L., *et al.* (2017) Quercetin and Derivatives: Useful Tools in Inflammation and Pain Management. *Future Medicinal Chemistry*, **9**, 79-93. <https://doi.org/10.4155/fmc-2016-0186>
- [22] Mohamed, E.M., Mohammed, A. and Gilles, G. (2016) The Benefits of Natural Products for Neurodegenerative Diseases: Role of Quercetin Benefits in Neurodegeneration. *Advances in Neurobiology*, **10**, 229-245.
- [23] Liao, P.C., Lai, M.H., Hsu, K.P. and Hsu, K.P. (2018) Identification of β -Sitosterol as *In Vitro* Anti-Inflammatory Constituent in *Moringa oleifera*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **66**, 10748-10759. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04555>
- [24] Gabay, O. (2010) Stigmasterol: A Phytosterol with Potential Anti-Osteoarthritic Properties. *Osteoarthritis and Carti-*

- lage, **18**, 106-116. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2009.08.019>
- [25] Wong, S.K., Chin, K.Y. and Ima-Nirwana, S. (2019) The Osteoprotective Effects of Kaempferol: The Evidence from *in Vivo* and *in Vitro* Studies. *Drug Design, Development and Therapy*, **13**, 3497-3514. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S227738>
- [26] Nabavi, S.F., Braidy, N., Gortzi, O., *et al.* (2015) Luteolin as an Anti-Inflammatory and Neuroprotective Agent: A Brief Review. *Brain Research Bulletin*, **119**, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.09.002>
- [27] 杨彬, 黄俊卿, 张继伟. 黄芪多糖对颈椎病模型大鼠颈椎间盘纤维环 MMP2 和 MMP9 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(10): 1876-1883.
- [28] 丁海霞, 樊成虎, 王玉泉, 等. 黄芪总苷对脊髓型颈椎病大鼠模型椎间盘细胞因子 IL-6、TNF- α 的影响[J]. 西部中医药, 2017, 30(7): 20-25.
- [29] 王玉泉, 兰晓飞, 樊成虎. 基于脊髓型颈椎病发病机制研究黄芪总苷对大鼠模型椎间盘中相关因子表达的影响[J]. 甘肃中医药大学学报, 2016, 33(4): 15-20.
- [30] Shuai, M., Lei, W., Zhao, X., *et al.* (2015) Sodium Tanshinone IIA Sulfonate for Reduction of Periprocedural Myocardial Injury during Percutaneous Coronary Intervention (STAMP Trial) Rationale and Design. *International Journal of Cardiology*, **182**, 329 -333. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.12.166>
- [31] Wang, X.P., Fan, J.B., Ding, X.M., *et al.* (2019) Tanshinone I Inhibits IL-1 β -Induced Apoptosis, Inflammation and Extracellular Matrix Degradation in Chondrocytes CHON-001 Cells and Attenuates Murine Osteoarthritis. *Drug Design, Development and Therapy*, **13**, 3559-3568. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S216596>
- [32] Sirtori, R., Riva, C., Ferrarese, C., *et al.* (2020) HSPA8 Knock-Down Induces the Accumulation of Neurodegenerative Disorder-Associated Proteins. *Neuroscience Letters*, **736**, Article ID: 135272. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135272>
- [33] Khayer, N., Mirzaie, M., Marashi, S.A., *et al.* (2020) Rps27a Might Act as a Controller of Microglia Activation in Triggering Neurodegenerative Diseases. *PLoS ONE*, **9**, e0239219. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239219>
- [34] Fernandez-Pol, J.A., Klos, D.J. and Hamilton, P.D. (1993) A Growth Factor-Inducible Gene Encodes a Novel Nuclear Protein with Zinc Finger Structure. *The Journal of Biological Chemistry*, **268**, 21198-21204. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)36910-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)36910-8)
- [35] Zhong, Y., Hu, Z.C., Wu, J.C., *et al.* (2020) STAU1 Selectively Regulates the Expression of Inflammatory and Immune Response Genes and Alternative Splicing of the Nerve Growth Factor Receptor Signaling Pathway. *Oncology Report*, **44**, 1863-1874. <https://doi.org/10.3892/or.2020.7769>
- [36] 贺丰, 朱立国, 赵赫, 等. 基于网络药理学探讨行气活血通络方治疗神经根型颈椎病的作用机制[J]. 中成药, 2020, 42(11): 3046-3052.
- [37] Taams, L.S., Steel, K.J.A., Srenathan, U., *et al.* (2018) IL-17 in the Immunopathogenesis of Spondyloarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, **14**, 453-466. <https://doi.org/10.1038/s41584-018-0044-2>
- [38] Yamaguchi, Y., Fujio, K., Shoda, H., *et al.* (2007) IL-17B and IL-17C Are Associated with TNF-Alpha Production and Contribute to the Exacerbation of Inflammatory Arthritis. *Journal of Immunology*, **179**, 7128-7136.
- [39] Corrado, C. and Fontana, S. (2020) Hypoxia and HIF Signaling: One Axis with Divergent Effects. *International of Journal of Molecular Science*, **21**, Article No. 5611. <https://doi.org/10.3390/ijms21165611>
- [40] Wang, P.P., Kong, F.P., Chen, X.Q., *et al.* (2011) HIF-1 Signal Pathway in Cellular Response to Hypoxia. *Journal of Zhejiang University (Medical Edition)*, **40**, 559-566.
- [41] Sun, Y., Liu, W.Z., Liu, T., *et al.* (2015) Signaling Pathway of MAPK/ERK in Cell Proliferation, Differentiation, Migration, Senescence and Apoptosis. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, **35**, 600-604. <https://doi.org/10.3109/10799893.2015.1030412>
- [42] Sun, H.Y., Hu, K.Z. and Yin, Z.S. (2017) Inhibition of the p38-MAPK Signaling Pathway Suppresses the Apoptosis and Expression of Proinflammatory Cytokines in Human Osteoarthritis Chondrocytes. *Cytokine*, **90**, 135-143.
- [43] Zhang, L.T., Li, X.J., Kong, X., *et al.* (2020) Effects of the NF κ B/p53 Signaling Pathway on Intervertebral Disc Nucleus Pulposus Degeneration. *Molecular Medicine Reports*, **22**, 1821-1830. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11288>