

# 夏枯草治疗甲状腺结节的作用机制 潜在药理机制

刘洋<sup>1</sup>, 柴家超<sup>2\*</sup>, 赵蕙琛<sup>1</sup>, 刘元涛<sup>3</sup>, 张玉超<sup>1</sup>, 左丹<sup>1</sup>

<sup>1</sup>青岛大学附属青岛市市立医院, 山东 青岛

<sup>2</sup>青岛市妇女儿童医院, 山东 青岛

<sup>3</sup>山东大学齐鲁医院(青岛), 山东 青岛

收稿日期: 2022年12月28日; 录用日期: 2023年1月21日; 发布日期: 2023年1月31日

## 摘要

目的: 确定夏枯草(*Spica prunellae*, SP)治疗甲状腺结节(thyroid nodule, TN)的有效性和潜在机制。方法: 首先, 从公开数据库搜集夏枯草活性成分对应靶点及甲状腺结节的靶点。通过网络拓扑分析、GO和KEGG通路富集分析筛选关键靶点和机制。应用分子对接来验证夏枯草与靶点的关系。结果: 夏枯草试验组在治疗甲状腺结节可提高临床总有效率, 经网络分析, 6个靶点(AKT1、TP53、IL6、MAPK3、MAPK1、CASP3)被识别为关键治疗靶点。富集分析表明, 潜在机制集中在与炎症、增殖和凋亡相关的生物过程和途径。关键途径被认为是PI3K-AKT信号通路。结论: 本研究阐明SP可能通过PI3K-AKT途径抑制炎症和增殖并促进细胞凋亡, 是一种潜在的治疗甲状腺结节的药物。

## 关键词

网络药理学, 分子对接, 夏枯草, 甲状腺结节

# Potential Pharmacological Mechanism of Action Mechanism of *Spica prunellae* in Treating Thyroid Nodule

Yang Liu<sup>1</sup>, Jiachao Chai<sup>2\*</sup>, Huichen Zhao<sup>1</sup>, Yantao Liu<sup>3</sup>, Yuchao Zhang<sup>1</sup>, Dan Zuo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Qingdao Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>2</sup>Qingdao Women and Children's Hospital, Qingdao Shandong

<sup>3</sup>Qilu Hospital of Shandong University (Qingdao), Qingdao Shandong

Received: Dec. 28<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jan. 21<sup>st</sup>, 2023; published: Jan. 31<sup>st</sup>, 2023

\*通讯作者。

文章引用: 刘洋, 柴家超, 赵蕙琛, 刘元涛, 张玉超, 左丹. 夏枯草治疗甲状腺结节的作用机制潜在药理机制[J]. 临床医学进展, 2023, 13(1): 1128-1138. DOI: 10.12677/acm.2023.131156

## Abstract

**Objective:** This research is to identify the underlying and efficient mechanism of *Spica prunellae* (SP) in the treatment of thyroid nodule (TN). **Methods:** Firstly, the targets corresponding to the active components of *Prunella vulgaris* and the targets of thyroid nodules were collected from public databases. The key targets and mechanisms were screened by network topology analysis, GO and KEGG pathway enrichment analysis. Molecular docking was used to verify the relationship between *Prunella vulgaris* and target. **Results:** Meta-analysis revealed that *Prunella vulgaris* significantly improved the total clinical effective rate in the treatment of thyroid nodules, network pharmacology suggested that 6 targets (AKT1, TP53, IL6, MAPK3, MAPK1, CASP3) were identified as dominating therapeutic targets after network analysis. The results of enrichment analysis suggested that the potential mechanism was concentrated mainly on the biological processes and pathways associated with inflammation, proliferation, and apoptosis. Especially, the main pathway was regarded as the PI3K-AKT signaling pathway. **Conclusion:** SP may suppress tumor, inflammation and proliferation and promote apoptosis through the PI3K-AKT pathway, which makes SP a potential treatment against TN.

## Keywords

Network Pharmacology, Molecular Docking, *Spica prunellae*, Thyroid Nodule

Copyright © 2023 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

甲状腺结节(thyroid nodule, TN)是甲状腺滤泡细胞异常生长并形成的肿块[1], 是甲状腺的一种增殖性疾病, 病因至今并未完全清楚, 一般认为, 其发病与接触放射性物质、自身免疫紊乱、家族遗传、碘摄入不足有关。流行病学研究显示, 人群中约 65%被检出, 大多数 TN 是良性的, 约 10%为恶性, 约 5%引起压迫性症状, 约 5%进展为功能性疾病[2]。据报道左甲状腺素能中等程度地减少结节体积, 但可引起医源性甲状腺毒症, 故临床上很少应用, 一般观察到甲状腺明显肿大, 有明显压迫症状或怀疑是恶性结节者, 选择手术治疗。因此, 迫切需要新的有效治疗方法来抑制 TN 的进展。

夏枯草始载于《神农本草经》, 味苦、辛, 性寒, 归肝、胆经, 根据中医理论, 具有“清火明目”、“消肿散瘀”的功效。已被广泛用于食品添加剂和药品[3]。以往的药理研究表明, SP 含有多糖、有机酸、黄酮等活性化学成分, 具有抗炎[4]、抗肿瘤[5]和免疫调节[6]等多种生物学功能。如今, SP 在甲状腺疾病中有广泛的应用, 例如 graves 病、甲状腺肿和亚急性甲状腺炎[7] [8] [9]。TN 在中医学中属于“瘰疬”范畴, 《医宗金鉴》中已有夏枯草膏治疗瘰疬的记载, 近 10 年文献报道的 TN 中药处方中, 使用频率最高的草药即夏枯草[10]。然而, 其潜在的机制尚不清楚。

基于生物信息学、网络生物学和药理学分析的网络药理学是系统全面地了解多组分与多目标之间相互作用规律的新策略[11] [12]。近年来, 网络药理学已被成功地用于预测中医在多种疾病治疗中的作用机制。因此, 我们采用网络药理学方法来研究 SP 在 TN 治疗中潜在的治疗靶点和治疗途径。

## 2. 资料与方法

### 2.1. 网络药理学方法

#### 2.1.1. SP 活性物质的筛选

利用中药系统药理学数据库[13] (TCMSP, <https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>), 根据 ADME (吸收、分布、代谢和排泄)特征, 口服生物利用度(Oral bioavailability, OB)和类药性(Drug-like, DL)筛选 SP 的有效成分[14]。而 DL 是为化合物与已知药物的相似性[15]。OB 指的是血液吸收并利用的比例和速度[16]。OB  $\geq$  30%、DL  $\geq$  0.18 的分子可被认为具有改善的药理作用[17], 共筛选 11 种活性化合物。此外, 通过文献检索, 筛选出 5 种用高效液相色谱法鉴定出的 SP 活性成分[18]。共有 19 个活性成分被用于后续的网络药理学研究。

#### 2.1.2. SP 活性成分及疾病靶标的预测

利用 PubChem 数据库[19] (<http://PubChem.NCBI.NLM.NIH.gov>)、查找有效成分的 SMILES, 利用 swissTargetPrediction 数据库[20] (<http://www.swissTargetPrediction.ch>)获取活性化合物的预测靶标。然后, 利用 uniprot 网站(<http://www.uniprot.org/>), 物种选择为人类, 以使信息标准化。以“甲状腺结节”为关键词, 从 OMIM 数据库(<http://omim.org/>) [21]、DisGeNET 数据库[22] (<https://www.disgenet.org>)及 GeneCards 数据库[23] (<https://www.GeneCards.org/>)数据库中收集相关 TN 的靶点。图 2 和图 3 描述了详细信息。

#### 2.1.3. 靶点映射及蛋白质相互作用分析

利用 Venny 2.1 网站(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)获取活性成分作用靶点与疾病靶点交集, 构建“活性成分 - 潜在治疗靶点”网络图。利用 STRING [24]网站构建治疗靶点蛋白互作网络。STRING tools (<https://string-db.org/>)是一个在线平台, 可以预测功能性蛋白质关联网络。网络数据用于拓扑特性分析, 以识别 TN 中的重要靶点(图 4)。

#### 2.1.4. GO 和 KEGG 途径富集分析

为了进一步揭示 SP 在 TN 治疗中的潜在作用机制, 我们将 SP 有效成分作用靶点与 TN 交叉靶点导入 DAVID 数据库[25] (<https://david.ncifcrf.gov/>)功能注释工具中, 限定物种为人类, 对 Gene Ontology (GO)中的生物过程(Biological Process, BP)进行富集分析, 以及 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)富集分析。通过 Bonferroni ( $P < 0.05$ )和 Benjamini ( $P < 0.05$ )校正功能注释的富集  $P$  值。然后使用在线作图工具微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn>)绘制 GO 富集和 KEGG 途径富集图。

#### 2.1.5. 网络构建

Cytoscape 3.6.1 [26] (<https://cytoscape.org/>)是一个用于生物分子相互作用网络集成模型软件, 用于构建以下网络: 1) 活性成分网络靶点图; 2) TN 靶点的 PPI 网络; 3) 交叉靶点的 PPI 网络; 4) 活性成分 - 靶点 - 通路网络。Cytoscape 软件被用于分析网络的拓扑性质。“degree”是指网络中与该节点直接交互的节点数[27]。级别反映了网络中节点的拓扑重要性, 值越高, 节点越重要。选择度高的靶点作为中心基因, 并用于进一步的分子对接。

## 2.2. 分子对接

通过分子对接来预测目标与化合物的相互作用。将筛选出的主要活性分子和核心靶点进行分子对接。在 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载核心靶点的 PDB 格式结构, 从 TCMSP 网站下载主要化合物的 mol2 格式结构, 利用 AutoDock4.2.6 软件删除核心靶点的水分子, 进行加氢、设置为受体等处理, 对主要活性分子进行加氢、设置为配体(自动分布电荷)、检测扭转键、选择扭转键等处理, 将化合物和靶点蛋

白保存为 pdbqt 格式的文件。运行 AutoDock 软件进行对接, 以结合能  $\leq 0 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  作为筛选标准, 保存最低结合能数据作为分子对接的结果, 采用 Pymol 软件进行可视化处理。

### 3. 结果

#### 3.1. 网络药理学结果

##### 3.1.1. 活性成分靶点网络

图 1 总结了网络药理学研究的流程图。在 TCMSP 的基础上, 通过 OB 和 DL 的筛选标准选择了 11 个活性成分。目前已有大量的高效液相色谱法鉴定 SP 的主要活性成分的研究, 我们在 Pubmed 和中国知网(CNKI)上进行了文献检索。补充了在 SP 中所占比例较大且已被证实具有活性作用的 8 种化合物, 包括白桦酸、咖啡酸、科罗素酸、洋桔梗酸、山楂酸、迷迭香酸、芦丁、齐墩果酸和熊果酸(表 1)。然后, 从 TCMSP、Pubchem 获取活性成分的化学式, 在 Swiss Target Prediction 中确定了 454 个预测靶点。为了进一步系统了解这 19 种化合物及其相应靶标之间的关系, 绘制了化合物-靶标网络(图 2(a))。在网络拓扑分析中, 我们确定了 degree 前 15 个化合物: 豆甾-7-烯醇(stigmast-7-enol)、二十八烷醇(Spinasterol)、桑黄素(Morin)、豆甾醇(Stigmasterol)、山奈酚(Kaempferol)、 $\beta$ -谷甾醇(beta-sitosterol)、槲皮素(Quercetin)、木樨草素(Luteolin)、芦丁(Rutine)、齐墩果酸(Oleanolic acid)、熊果酸(Ursolic acid)、咖啡酸(Caffeic acid)、木犀酸(Euscaphic acid)、蒙太酸(Maslinic acid)、迷迭香酸(Rosmarinic acid)。

**Table 1.** Chemical information of SP active compounds

**表 1.** SP 活性化合物的化学信息

序列	成分	CAS no.	化学式
MOL000006	Luteolin (木樨草素)	491-70-3	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$
MOL000098	Quercetin (槲皮素)	117-39-5	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$
MOL000358	beta-sitosterol ( $\beta$ -谷甾醇)	83-46-5	$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$
MOL000422	Kaempferol (山奈酚)	520-18-3	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$
MOL000449	Stigmasterol (豆甾醇)	83-48-7	$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$
MOL000737	Morin (桑黄素)	480-16-0	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$
MOL004355	Spinasterol (二十八烷醇)	481-18-5	$\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}$
MOL004798	Delphinidin (飞燕草素)	528-53-0	$\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{ClO}_7$
MOL006767	Vulgaxanthin-I (仙人掌黄素-I)	904-62-1	$\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_7$
MOL006772	poriferasterol monoglucoside_qt (单葡萄糖苷)	19716-26-8	$\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_6$
MOL006774	stigmast-7-enol (豆甾-7-烯醇)	6869-99-4	$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$
MOL000211	Betulinic acid (白桦酸)	472-15-1	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$
MOL000511	Ursolic acid (熊果酸)	77-52-1	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$
MOL000511	Rosmarinic acid (迷迭香酸)	537-15-5	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$
MOL000263	Oleanolic acid (齐墩果酸)	508-02-1	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$
MOL000415	Rutine (芦丁)	153-18-4	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$
MOL005559	Maslinic acid (蒙太酸)	4373-41-5	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_4$
MOL000414	Caffeic acid (咖啡酸)	331-39-5	$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$
MOL005855	Euscaphic acid (木犀酸)	53155-25-2	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$

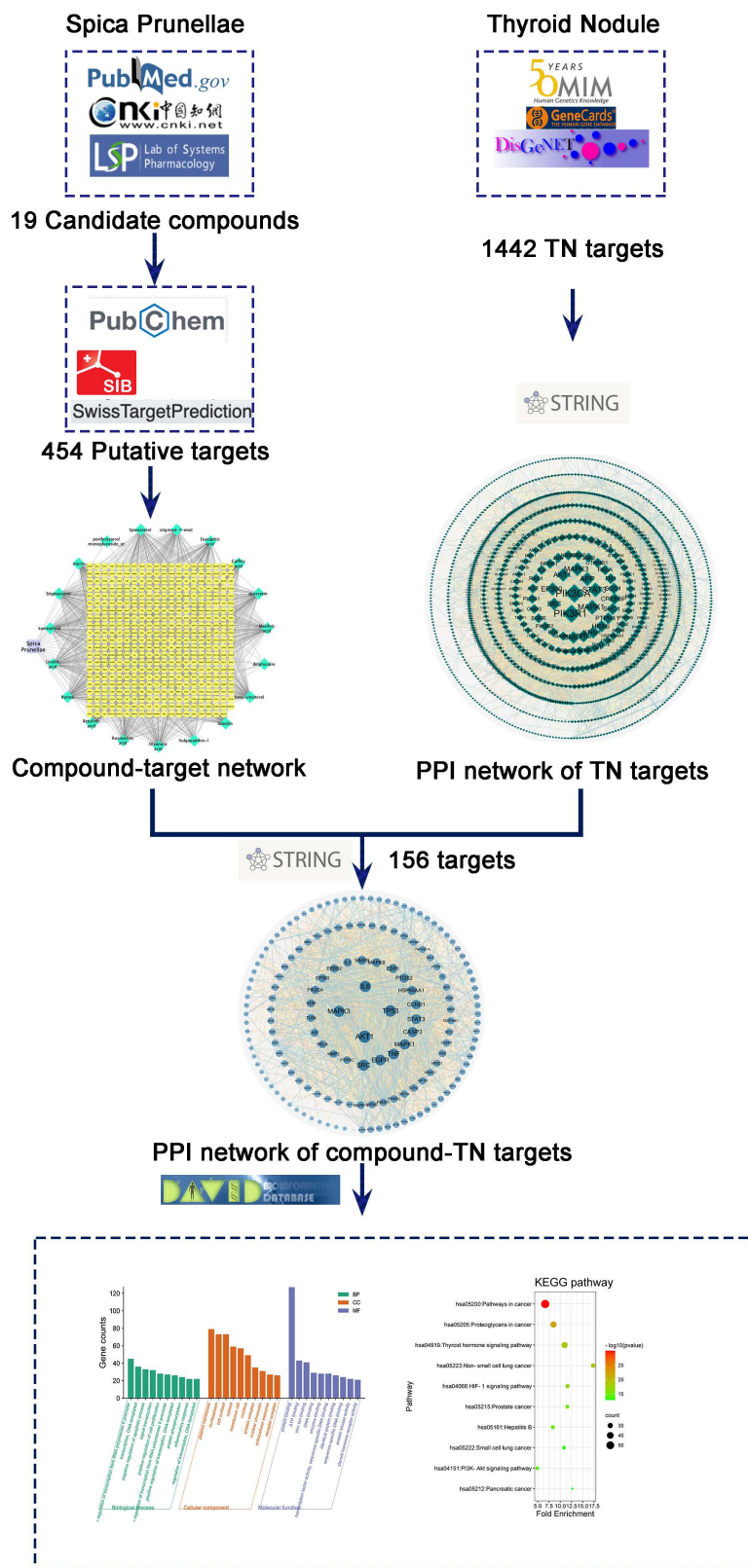
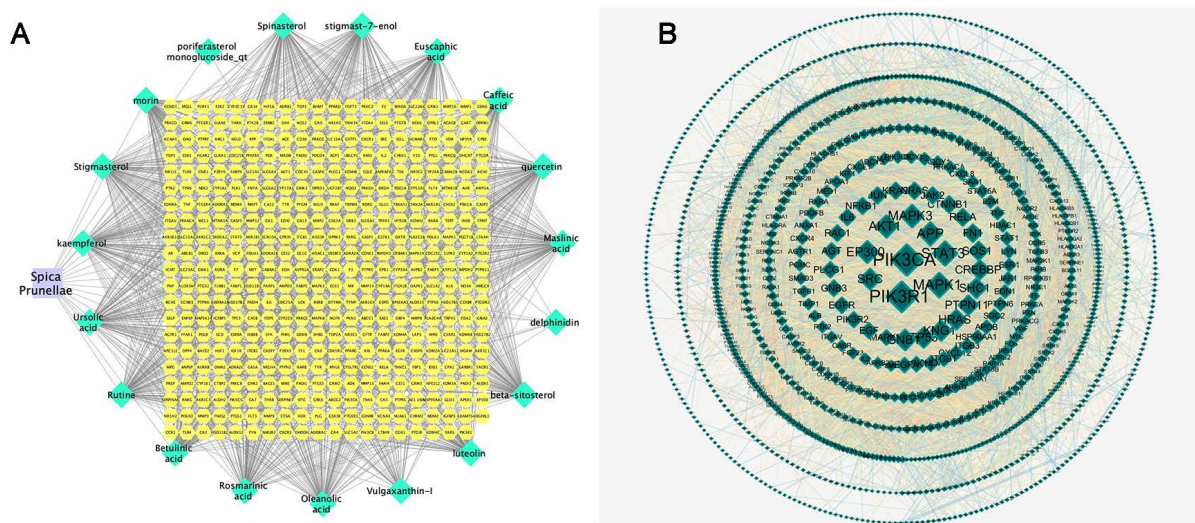


Figure 1. SP research flow chart on the mechanism of TN treatment  
图 1. SP 关于 TN 治疗中机制的研究流程图



### 3.1.2. 靶点网络

在本研究中, 共有 1442 种蛋白质被记录为 TN 的潜在疾病靶点(图 2)。如图 2(b)所示, PPI 网络反映了这些目标之间的相互作用。与 TN 病理过程高度相关的 20 个靶点, 按结节程度排序, 包括 PIK3CA (degree = 186)、PIK3R1 (degree = 182)、MAPK1 (degree = 146)、STAT3 (degree = 143)、APP (degree = 137)、MAPK3 (degree = 133)、ATK1 (degree = 132)、EP300 (degree = 130)、SRC (132)、GNB1 (122)、TP53 (120)、KNG1 (119)、HRAS (117)、PTPN11 (115)、SHC1 (115)、CREBBP (112)、SOS1 (110)、PN1 (104)、RELA (100)、GTNNB1 (98)、IL6 (93)、MAPK8 (87)、EGF (90)。



**Figure 2.** SP-network diagram of active ingredients-targets and PPI network of TN targets. A. SP-active ingredient-target. The square node represents *Prunella vulgaris*, the green diamond node represents the active compound of SP, and the yellow hexagonal node represents the corresponding target. B. PPI network of TN target. The size and color of the nodes are displayed in descending order of degrees

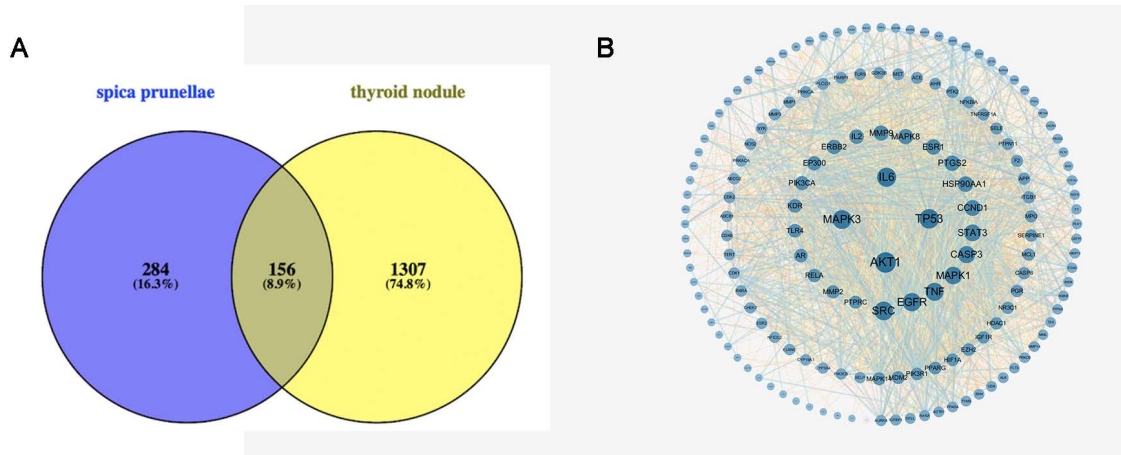
**图 2.** SP-有效成分 - 靶点的网络图及 TN 靶点的 PPI 网络。A. SP-有效成分 - 靶点。紫色正方形节点代表夏枯草, 绿菱形节点表示 SP 的活性化合物, 黄的六边形节点表示相应的靶点。B. TN 靶点的 PPI 网络。节点的大小和颜色按度值的降序从大到小依次显示

### 3.1.3. 交集靶点的 PPI 网络构建

基于以上结果, SP 的 454 个假定目标映射到 1442 个 TN 相关靶点以获得交集靶点。因此, 156 个目标被确定为与 TN 治疗有关的候选靶点(图 3(a))。然后构建一个 PPI 网络来评估靶点在疾病中作用并发现靶点之间交互作用。在分析了上述 PPI 网络的拓扑特征后, 在图 4 中对 156 个基因进行了 degree 的降序排列。如图 3(b)所示, 节点根据程度排列成同心圆, 最里面的 17 个关键节点, 包括 AKT1、TP53、IL-6 (白细胞介素-6)、MAPK3 (丝裂原活化蛋白激酶 3)、SRC、EGFR、TNF、MAPK1、CASPS3、STAT3、CNND1、HSP90AA1、PTGS2、ESR1、MAPK8、MMP9、IL2 这些中枢基因在网络中具有重要意义。

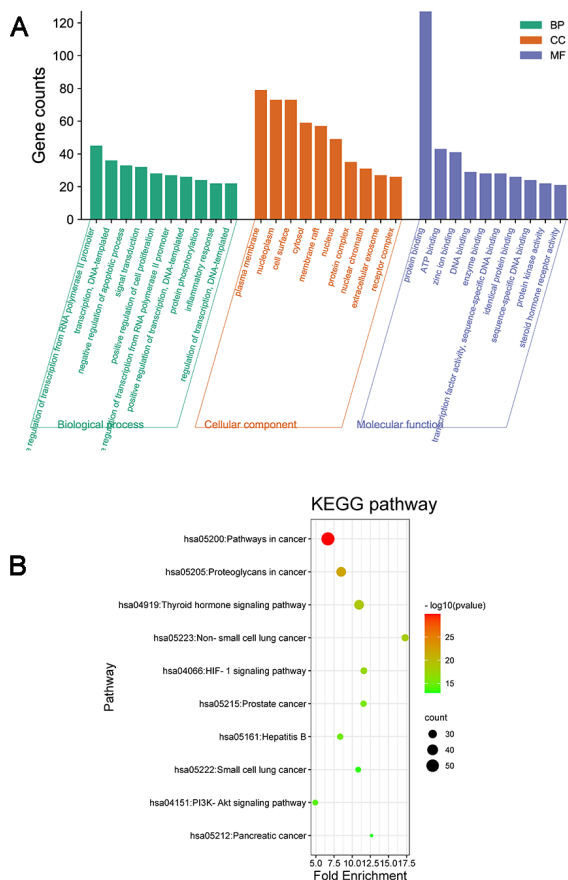
### 3.1.4. GO 富集分析和 KEGG 通路分析

为了进一步系统阐明药物治疗的机理, 利用 DAVID 网站对 156 个基因进行了富集分析。前 10 个 GO 项目和 KEGG 途径是根据靶点基因计数和 P 值选择的(图 4)。对于生物过程, 靶点主要富集在细胞增殖(GO: 0008284, GO: 0008283)、转录调控(GO: 0006351, GO: 0045944)、信号转导(GO: 0007165)、凋亡(GO: 0043066)、炎症反应(GO: 0006954, GO: 0050900), 另外还涉及血管生成(GO: 0006955)。类固醇激素介导的信号通路(GO: 0043401)。



**Figure 3.** Venn diagram and PPI network of active ingredients and TN targets of SP. A. Venn diagram of SP and TN cross targets. B. PPI network of SP active ingredients and TN cross targets. The size and color of the nodes are displayed in descending order of degrees, and the blue is displayed from dark to light

**图 3.** SP 有效成分及 TN 靶点的 Venn 图和 PPI 网络。A. SP 和 TN 交叉靶点的维恩图。B. SP 有效成分及 TN 交叉靶点的 PPI 网络。节点的大小和颜色按度值的降序从大到小、蓝色由深到浅显示



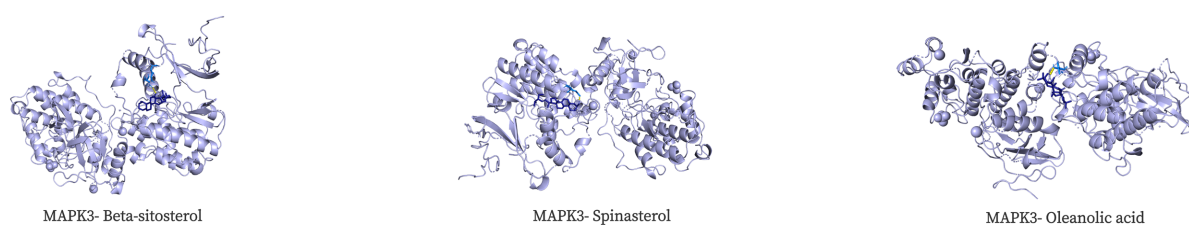
**Figure 4.** Enrichment analysis of cross targets. A. GO enrichment analysis. The first 10 items of each section are shown. BP: biological process, CC: cell composition, MF: molecular function. B. KEGG pathway analysis. The size of bubbles is in descending order according to the number of potential targets involved in the path

**图 4.** 交叉靶点的富集分析。A. GO 富集分析。显示了每个部分的前 10 条。BP: 生物过程, CC: 细胞成分, MF: 分子功能。B. KEGG 通路分析。气泡的大小从大到小按照路径中涉及的潜在目标数量的降序排列

对于通路分析,大多数涉及肿瘤(hsa05200、hsa05205、hsa05223、hsa05215等);另外还涉及免疫、炎症以及氧化应激相关通路,如PI3K-AKT信号通路(hsa04151)、TNF信号通路(hsa04668)、FoxO信号通路(hsa04068)、VEGF信号通路(hsa04370)、Toll样受体信号通路(hsa04620);一部分涉及甲状腺激素相关通路(hsa04919)、甲状腺肿瘤(hsa05216)、胰岛素抵抗(hsa04931)、胰岛素信号通路(hsa04910)。

### 3.2. 分子对接结果

在TN靶点的PPI网络中的17个枢纽节点中,8个靶点被认为是关键致病基因,包括AKT1、TP53、IL-6、MAPK3、MAPK1、STAT3、SRC和MAPK8。结合能值小于0表示配体分子可以自发结合到受体蛋白,而结合能值小于-5.0 kJ·mol<sup>-1</sup>表明配体分子具有理想的结合亲和力[28]。分子对接分析的结果显示,所有化合物-靶标对均低于0,表明每个核心化合物与关键靶标具有良好的结合亲和力。其中,齐墩果酸、菠菜甾醇、 $\beta$ -谷甾醇的结合能最强(图5)。



**Figure 5.** Molecular docking  
**图 5.** 分子对接

## 4. 讨论

近年来,有关TN等复杂疾病的中药治疗的研究越来越多,其中网络药理学方法发挥了重要作用。在本研究中,我们将网络药理学和分子对接相结合,研究SP治疗TN的疗效和潜在药理机制。构建了有效成分靶点网络、TN靶点的PPI网络、有效成分与TN交叉靶点的PPI网络和有效成分靶点重要通路网络来揭示SP在TN治疗中的潜在靶点和通路。

整合了多个数据库的信息后,19个有效成分的共156个靶点与TN相关。根据化合物-靶标网络,11个化合物和预测靶点高度连接,可以被认定为SP中的重要化合物。先前的研究表明槲皮素[29]、熊果酸[30]、木犀草素[31][32]、山萘酚[33]、桑色素[34]在各种疾病中具有抗肿瘤、抗炎、促凋亡和免疫调节[35]作用。有研究证实熊果酸对甲状腺癌TPC-1细胞增殖的抑制作用[36]。山萘酚及木犀草素对人乳头状及滤泡状甲状腺癌细胞系有强大的抗增殖作用[37]。槲皮素对髓样和人乳头状甲状腺细胞系有细胞毒性作用[38];这提示SP可能在TN治疗中表现出有益的效果。

事实上,PPI网络靶点确实反映了TN的潜在发病机制,流行病学显示,亚急性甲状腺炎及淋巴细胞性甲状腺炎患者易发甲状腺结节[39],自身免疫性甲状腺疾病中乳头状癌的发病率增加[40][41]。炎症是影响炎症性疾病患者癌症风险的最关键因素之一。亚甲炎由于其在甲状腺组织内独特的炎症变化,也可能被认为是甲状腺乳头状癌发生的危险因素。先前的研究表明,环氧合酶-2(COX-2)的表达主要局限于单核炎症细胞,其在桥本甲状腺炎患者中表达升高。此外,滤泡腺瘤、乳头状癌和滤泡状癌表现出较强的COX-2表达[41],表明甲状腺肿瘤发生过程中持续上调,由于在滤泡腺瘤、乳头状癌和滤泡状癌中观察到COX-2的表达,该酶可能参与甲状腺肿瘤发生的早期过程[41];然而,不同炎症途径和甲状腺结节的相关风险还需要进一步研究。

此外,为了更好地阐明SP治疗TN的机制,从156个靶点中筛选出17个关键基因。巧合的是,在



TN 靶点的 PPI 网络中,有 6 个靶点被认为是关键致病基因,即包括 AKT1、TP53、IL6、MAPK3、MAPK1、CASP3,再次确认 SP 可能对 TN 有良好的作用。GO 功能注释和通路富集分析进一步支持了潜在的治疗机制,其结果主要是肿瘤、免疫炎症、增殖和凋亡。SP 在肿瘤方面的作用已被证实。在免疫炎症方面,促炎细胞因子 PTGS2、IL6 和 TNF 被证实参与 TN 的发病。先前的研究已经注意到 PTGS2 甲基化在甲状腺肿瘤起重要作用[42],在甲状腺细胞中细胞因子如 IL-1 $\alpha$  和肿瘤坏死因子配体(TNFL)/肿瘤坏死因子受体(TNFR)家族成员刺激 IL-6 的产生[43]。研究表明,血清中 TNF 水平的升高是由 AKT1/NF- $\kappa$ B 信号通路介导的[44]。PI3K-AKT 信号通路似乎在介导 TN 中的细胞生长和死亡中起重要作用。TSHR 的激活通过 PI3K-AKT 途径导致炎症基因表达和增殖增加[45] [46] [47] CASP3 的激活是凋亡执行的最后步骤之一,SP 在各种癌症中通过激活 CASP3 表现出促凋亡作用[48]。MAPK 途径的基因改变促进细胞向乳头状甲状腺癌转化[49]。因此,从结果可以总结出,无论是在免疫炎症还是增殖和凋亡中,的 PI3K-AKT 信号通路在 TN 中起着关键作用。PI3K/Akt 途径的基因改变促进甲状腺细胞向滤泡性甲状腺癌转化,可激活这两种途径的多种基因改变的累积促进甲状腺癌的侵袭性进展。

此前有研究团队通过临床调查结合多元统计分析方法将甲状腺结节证候规范化研究,以痰瘀互结证、脾肾阳虚证、肝郁痰凝证、阴虚内热证作为甲状腺结节的辨证分型标准[50]。我们已经证实 SP 对甲状腺结节的作用,其对各种辨证分型的作用尚需进一步的系统研究。

本研究中我们发现 SP 还涉及甲状腺激素相关通路、甲状腺肿瘤、胰岛素抵抗、胰岛素信号通路。这与前期研究结果是一致的,胰岛素抵抗对甲状腺结节的形成以及癌症的发展具有重要的作用。相关机制包括胰岛素与促甲状腺激素(TSH)可部分通过胰岛素样生长因子 1 (IGF-1)而诱导甲状腺细胞的增殖。

综上所述,到目前为止,TN 治疗一直是一个棘手的问题,但中医可能是一个潜在的替代治疗。在本研究中,我们整个网络药理学,从复杂网络中预测了关键靶点,并对 SP 在 TN 中的治疗机制进行了综合解释,可能集中在三个方面:免疫炎症抑制和增殖与凋亡的调节。我们的研究将对开发针对 TN 的治疗方法有所启发。然而,需要进一步进行体内及体外的疗效实验来验证上述 SP 在 TN 的治疗作用。

## 参考文献

- [1] Wong, R., Farrell, S.G. and Grossmann, M. (2018) Thyroid Nodules: Diagnosis and Management. *Medical Journal of Australia*, **209**, 92-98. <https://doi.org/10.5694/mja17.01204>
- [2] Durante, C., Grani, G., Lamartina, L., et al. (2018) The Diagnosis and Management of Thyroid Nodules: A Review. *JAMA*, **319**, 914-924. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.0898>
- [3] 郭巧生, 陈宇航. 夏枯草基原植物及其食疗历史考证[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(21): 3057-3062.
- [4] Hwang, Y.-J., Lee, E.-J., Kim, H.-R. and Hwang, K.-A. (2013) NF- $\kappa$ B-Targeted Anti-Inflammatory Activity of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* in Macrophages RAW 264.7. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**, 21489-21503. <https://doi.org/10.3390/ijms141121489>
- [5] Tan, J., Qi, H. and Ni, J. (2015) Extracts of Endophytic Fungus xkc-s03 from *Prunella vulgaris* L. *spica* Inhibit Gastric Cancer *in Vitro* and *in Vivo*. *Oncology Letters*, **9**, 945-949. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2722>
- [6] Kim, H.-I., Quan, F.-S., Kim, J.-E., et al. (2014) Inhibition of Estrogen Signaling through Depletion of Estrogen Receptor Alpha by Ursolic Acid and Betulinic Acid from *Prunella vulgaris* var. *lilacina*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **451**, 282-287. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.07.115>
- [7] 竺夏静, 范尧夫, 张会峰, 等. 夏枯草口服液治疗甲状腺功能亢进症的系统评价[J]. 药物评价研究, 2021, 44(8): 1764-1771.
- [8] 李明, 王晓佳, 刘刚. 夏枯草口服液联合左甲状腺素钠治疗结节性甲状腺肿患者的效果[J]. 中国民康医学, 2021, 33(16): 68-70.
- [9] 战群. 基于数据挖掘技术探析中药治疗亚急性甲状腺炎的用药规律[D]: [硕士学位论文]. 长春: 长春中医药大学, 2019: 1-53.
- [10] 朱晨焱. 基于数据挖掘分析张兰教授治疗甲状腺结节的经验及用药规律[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁中医药

- 大学, 2021: 1-47.
- [11] Hopkins, A.L. (2008) Network Pharmacology: The Next Paradigm in Drug Discovery. *Nature Chemical Biology*, **4**, 682-690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>
- [12] Aguayo-Orozco, A., Audouze, K., Brunak, S. and Taboureau, O. (2016) *In Silico* Systems Pharmacology to Assess Drug's Therapeutic and Toxic Effects. *Current Pharmaceutical Design*, **22**, 6895-6902. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160907093215>
- [13] Ru, J., Li, P., Wang, J., *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>
- [14] Liu, H., Wang, J., Zhou, W., Wang, Y. and Yang, L. (2013) Systems Approaches and Polypharmacology for Drug Discovery from Herbal Medicines: An Example Using Licorice. *Journal of Ethnopharmacology*, **146**, 773-793. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.02.004>
- [15] Varma, M.V., Obach, R.S., Rotter, C., *et al.* (2010) Physicochemical Space for Optimum Oral Bioavailability: Contribution of Human Intestinal Absorption and First-Pass Elimination. *Journal of Medicinal Chemistry*, **53**, 1098-1108. <https://doi.org/10.1021/jm901371v>
- [16] Tao, W., Xu, X., Wang, X., *et al.* (2013) Network Pharmacology-Based Prediction of the Active Ingredients and Potential Targets of Chinese Herbal *Radix Curcumae* Formula for Application to Cardiovascular Disease. *Journal of Ethnopharmacology*, **145**, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.09.051>
- [17] Yang, H., Zhang, W., Huang, C., *et al.* (2014) A Novel Systems Pharmacology Model for Herbal Medicine Injection: A Case Using Reduning Injection. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **14**, Article No. 430. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-430>
- [18] Zhang, Y., Li, X., Guo, C., Dong, J. and Liao, L. (2020) Mechanisms of *Spica prunellae* against Thyroid-Associated Ophthalmopathy Based on Network Pharmacology and Molecular Docking. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, **20**, Article No. 229. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-03022-2>
- [19] Kim, S., Chen, J., Cheng, T., *et al.* (2019) PubChem 2019 Update: Improved Access to Chemical Data. *Nucleic Acids Research*, **47**, D1102-D1109. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1033>
- [20] Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., *et al.* (2014) SwissTargetPrediction: A Web Server for Target Prediction of Bioactive Small Molecules. *Nucleic Acids Research*, **42**, W32-W38. <https://doi.org/10.1093/nar/gku293>
- [21] Boyadjiev, S. and Jabs, E. (2000) Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) as a Knowledgebase for Human Developmental Disorders. *Clinical Genetics*, **57**, 253-266. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2000.570403.x>
- [22] 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>
- [23] Rebhan, M., Chalifa-Caspi, V., Prilusky, J. and Lancet, D. (1998) GeneCards: A Novel Functional Genomics Compendium with Automated Data Mining and Query Reformulation Support. *Bioinformatics*, **14**, 656-664. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/14.8.656>
- [24] Szklarczyk, D., Morris, J.H., Cook, H., *et al.* (2017) The STRING Database in 2017: Quality-Controlled Protein-Protein Association Networks, Made Broadly Accessible. *Nucleic Acids Research*, **45**, D362-D368. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw937>
- [25] Huang, D.W., Sherman, B.T. and Lempicki, R.A. (2008) Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protocols*, **4**, 44-57. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211>
- [26] Shannon, P., *et al.* (2003) Cytoscape: A Software Environment for Integrated Models of Biomolecular Interaction Networks. *Genome Research*, **13**, 2498-2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- [27] Missiuro, P.V., Liu, K., Zou, L., *et al.* (2009) Information Flow Analysis of Interactome Networks. *PLOS Computational Biology*, **5**, e1000350. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000350>
- [28] 庄莉, 翟园园, 姚卫峰, 等. 基于网络药理学的二至丸对肾脏保护作用的机制研究[J]. 药学学报, 2019, 54(5): 877-885.
- [29] Belviranli, M., Okudan, N. and Lamprecht, M. (2015) Well-Known Antioxidants and Newcomers in Sport Nutrition: Coenzyme Q10, Quercetin, Resveratrol, Pterostilbene, Pycnogenol and Astaxanthin. In: Lamprecht, M., Ed., *Antioxidants in Sport Nutrition*, Chapter 5, CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton.
- [30] Zhang, N., Liu, S., Shi, S., *et al.* (2020) Solubilization and Delivery of Ursolic-Acid for Modulating Tumor Microenvironment and Regulatory T Cell Activities in Cancer Immunotherapy. *Journal of Controlled Release*, **320**, 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.015>
- [31] Lim, D.Y., Jeong, Y., Tyner, A.L. and Park, J.H.Y. (2007) Induction of Cell Cycle Arrest and Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells by the Dietary Compound Luteolin. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and*

- Liver Physiology*, **292**, G66-G75. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00248.2006>
- [32] Ou, H.-C., Pandey, S., Hung, M.Y., *et al.* (2019) Luteolin: A Natural Flavonoid Enhances the Survival of HUVECs against Oxidative Stress by Modulating AMPK/PKC Pathway. *The American Journal of Chinese Medicine*, **47**, 541-557. <https://doi.org/10.1142/S0192415X19500289>
- [33] Jia, Z., Chen, A., Wang, C., *et al.* (2019) Amelioration Effects of Kaempferol on Immune Response Following Chronic Intermittent Cold-Stress. *Research in Veterinary Science*, **125**, 390-396. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.012>
- [34] Mo, J.-S., Choi, D., Han, Y.-R., Kim, N. and Jeong, H.-S. (2019) Morin Has Protective Potential against ER Stress Induced Apoptosis in Renal Proximal Tubular HK-2 Cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **112**, Article ID: 108659. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108659>
- [35] Sun, H.-X., Qin, F. and Pan, Y.-J. (2005) *In Vitro* and *in Vivo* Immunosuppressive Activity of *Spica prunellae* Ethanol Extract on the Immune Responses in Mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **101**, 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.023>
- [36] 侯东升, 张静, 冯丽, 等. 熊果酸对甲状腺癌 TPC-1 细胞增殖的抑制作用[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(7): 720-725.
- [37] Wang, X., Li, M., Hu, M., Wei, P. and Zhu, W. (2017) BAMB1 Overexpression Together with  $\beta$ -Sitosterol Ameliorates NSCLC via Inhibiting Autophagy and Inactivating TGF- $\beta$ /Smad2/3 Pathway. *Oncology Reports*, **37**, 3046-3054. <https://doi.org/10.3892/or.2017.5508>
- [38] Quagliariello, V., Armenia, E., Aurilio, C., *et al.* (2016) New Treatment of Medullary and Papillary Human Thyroid Cancer: Biological Effects of Hyaluronic Acid Hydrogel Loaded with Quercetin Alone or in Combination to an Inhibitor of Aurora Kinase. *Journal of Cellular Physiology*, **231**, 1784-1795. <https://doi.org/10.1002/jcp.25283>
- [39] Gül, N., Üzümlü, A.K., Selçukbiricik, Ö.S., *et al.* (2018) Prevalence of Papillary Thyroid Cancer in Subacute Thyroiditis Patients May Be Higher than It Is Presumed: Retrospective Analysis of 137 Patients. *Radiology and Oncology*, **2**, 257-262. <https://doi.org/10.2478/raon-2018-0027>
- [40] Chen, Y.-K., Lin, C.-L., Chang, Y.-J., *et al.* (2013) Cancer Risk in Patients with Graves' Disease: A Nationwide Cohort Study. *Thyroid*, **23**, 879-884. <https://doi.org/10.1089/thy.2012.0568>
- [41] Chen, Y.-K., Lin, C.-L., Chang, F.T.-F., Sung, F.-C. and Kao, C.-H. (2013) Cancer Risk in Patients with Hashimoto's Thyroiditis: A Nationwide Cohort Study. *British Journal of Cancer*, **109**, 2496-2501. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.597>
- [42] Chang, H., Shin, B.K., Kim, A., Kim, H.K. and Kim, B.H. (2016) DNA Methylation Analysis for the Diagnosis of Thyroid Nodules—A Pilot Study with Reference to *BRAF*<sup>V600E</sup> Mutation and Cytopathology Results. *Cytopathology*, **27**, 122-130. <https://doi.org/10.1111/cyt.12248>
- [43] Ruggeri, R.M., Villari, D., Simone, A., *et al.* (2012) Co-Expression of Interleukin-6 (IL-6) and Interleukin-6 Receptor (IL-6R) in Thyroid Nodules Is Associated with Co-Expression of CD30 Ligand/CD30 Receptor. *Journal of Endocrinological Investigation*, **25**, 959-966. <https://doi.org/10.1007/BF03344068>
- [44] Luo, L.-H., Li, D.-M., Wang, Y.-L., *et al.* (2017) Tim3/Galectin-9 Alleviates the Inflammation of TAO Patients via Suppressing Akt/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **491**, 966-972. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.07.144>
- [45] Woeller, C.F., Roztocil, E., Hammond, C. and Feldon, S.E. (2019) TSHR Signaling Stimulates Proliferation through PI3K/Akt and Induction of miR-146a and miR-155 in Thyroid Eye Disease Orbital Fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **60**, 4336-4345. <https://doi.org/10.1167/iovs.19-27865>
- [46] Kumar, S., Nadeem, S., Stan, M.N., Coenen, M. and Bahn, R.S. (2011) A Stimulatory TSH Receptor Antibody Enhances Adipogenesis via Phosphoinositide 3-Kinase Activation in Orbital Preadipocytes from Patients with Graves' Ophthalmopathy. *Journal of Molecular Endocrinology*, **46**, 155-163. <https://doi.org/10.1530/JME-11-0006>
- [47] Li, B. and Smith, T.J. (2014) PI3K/AKT Pathway Mediates Induction of IL-1RA by TSH in Fibrocytes: Modulation by PTEN. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **99**, 3363-3372. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1257>
- [48] Zhu, J., Zhang, W., Zhang, Y., *et al.* (2018) Effects of *Spica prunellae* on Caspase-3-Associated Proliferation and Apoptosis in Human Lung Cancer Cells *in Vitro*. *Journal of Cancer Research & Therapy*, **14**, 760-763. [https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT\\_1289\\_16](https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_1289_16)
- [49] Johnson, G.L. (2011) Defining MAPK Interactomes. *ACS Chemical Biology*, **6**, 18-20. <https://doi.org/10.1021/cb100384z>
- [50] 仇莲胤, 阙华发. 甲状腺结节辨证分型标准的临床研究[J]. 上海中医药大学学报, 2013, 27(4): 26-30.