

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2024.04.007

• 网络药理学 •

基于网络药理学探究消瘰丸治疗甲状腺结节作用机制

黄太发¹ 龚红卫^{2△}

¹湖北中医药大学第一临床学院,武汉 430061

²湖北中医药大学附属湖北省中医院肿瘤科,武汉 430060

摘要 **目的** 基于网络药理学探究消瘰丸治疗甲状腺结节的潜在作用机制。**方法** 运用多个数据库检索并筛选出消瘰丸活性成分,将筛选出的消瘰丸活性成分导入 Swiss Target Prediction 数据库筛选出药物靶点。在 Gene Cards、Omim 和 Therapeutic Target Database 数据库上检索并筛选出甲状腺结节疾病靶点,运用 Venny 软件将药物靶点和疾病靶点进行交集,得到消瘰丸治疗甲状腺结节的潜在作用靶点。将药物与疾病的交集靶点导入 String 数据库进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)分析,运用 Sytoscape 软件进行可视化及拓扑分析,筛选出核心靶点。使用 DAVID 数据库对交集靶点进行 GO 与 KEGG 富集分析。**结果** 共筛选出药物靶点 359 个,疾病靶点 3652 个,交集靶点 185 个。PPI 网络分析得到消瘰丸治疗甲状腺结节的核心靶点有 AKT1、TP53、BCL-2、SRC、EGFR 等。GO 富集分析结果显示,潜在治疗靶点主要参与了蛋白质磷酸化、凋亡的负调控、对异源性刺激的反应和信号传导等生物过程;KEGG 富集分析结果显示,消瘰丸治疗甲状腺结节涉及到的通路主要包括癌症通路、甲状腺激素通路、PI3K-Akt 通路、化学致癌-受体激活通路等。**结论** 消瘰丸的多种活性成分能够通过多靶点、多通路协同作用,对甲状腺结节起到治疗作用,其机制可能涉及到癌症通路、甲状腺激素通路、PI3K-Akt 通路、化学致癌-受体激活通路等信号通路的调控。

关键词 消瘰丸;甲状腺结节;网络药理学;靶点;信号通路

中图分类号 R259;R285 **文献标志码** A

甲状腺结节是指甲状腺细胞异常增生后在甲状腺组织中形成的团块,多数患者为体检时发现,发现时多无明显临床症状^[1]。其病因和发病机制尚未完全阐明,目前普遍认为,年龄、性别、肥胖、糖尿病、碘的缺乏或摄入过多、电离辐射等均与甲状腺结节的发生存在着密切的关联^[2]。流行病学研究^[3]显示,近年来我国甲状腺结节患病率呈明显上升趋势,其在女性中的发病率明显高于男性。现代医学针对不同性质的甲状腺结节,主要采取定期随访、射频消融、药物治疗等治疗手段,但均存在着一定的局限性和风险^[4]。相比之下,中医药凭借着其卓越的疗效及安全便捷等优点,逐渐被越来越多的患者所选择。中医将甲状腺结节归为“瘰瘤”“气瘰”“瘰病”等范畴,普遍认为其核心病机为气结痰凝^[5],化痰散结为治疗此病的关键。消瘰丸出自清代名医程钟龄所著之《医学心悟》,由玄参、浙贝母、牡蛎组成。方以浙贝母清热化痰、散结消瘰为君,玄参、牡蛎软坚散结、清热解毒共为臣药,共

奏软坚散结、化痰消瘰之功效,主治痰热凝结之瘰癧。诸多临床研究表明,消瘰丸治疗甲状腺结节疗效显著且安全可靠。本研究旨在通过网络药理学分析消瘰丸治疗甲状腺结节的潜在靶点及信号通路,为今后进一步阐明其作用机制提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 消瘰丸活性成分及靶向基因筛选

利用 TCMSP、BATMAN 数据库对消瘰丸中的活性成分进行筛选。在 TCMSP 中,以口服生物利用度(oral bioavailability, OB) ≥ 30 、药物相似度(drug likeness, DL) ≥ 0.18 为条件进行筛选;在 BATMAN 中,以评分截至值 ≥ 20 、校正 P 值 < 0.5 为条件进行筛选,并通过 Uniprot 规范相关蛋白的缩写名称。在 PubChem 上初步筛选出活性成分对应靶点,并在 Swiss Target Prediction 数据库上以 Probability > 0.1 为条件预测相关靶点并筛选。

1.2 甲状腺结节相关靶点筛选

在 Gene Cards、Omim 和 Therapeutic Target Da-

△通信作者,Corresponding author, E-mail:1246064428@qq.com

tabase 数据库上以“Thyroid nodules”为关键词,检索疾病相关靶点并汇总去重。

1.3 消癭丸治疗甲状腺结节的潜在靶点

将上述筛选后得到的药物靶点与疾病靶点利用 Venny 2.1.0 软件进行交集,获得的交集靶点即为消癭丸治疗甲状腺结节的潜在靶点。

1.4 PPI 网络图构建及核心靶点筛选

将上述通过 Venny 软件筛选出的交集靶点导入 String 数据库,设置蛋白种类为“Homo sapiens”,得到蛋白之间的相关作用关系,导入 Sytoscape 软件进行可视化观察并通过 SytoNCA 进行拓扑分析以筛选核心靶点。

1.5 GO 及 KEGG 富集分析

为进一步观察交集靶点生物学功能及作用通路,将筛选出的交集靶点导入 DAVID 数据库进行 GO 和 KEGG 富集分析,并借助微生信平台绘制 GO 富集分析柱状图及 KEGG 富集分析气泡图。

2 结果

2.1 消癭丸活性成分及对应药物靶点

在 TCMSP、BATMAN 数据库上分别筛选出消癭丸潜在活性成分共 15 种,其中玄参 5 种,浙贝母 7 种,煅牡蛎 3 种。用筛选出的活性成分预测出靶点共 553 个,汇总去重后得到药物靶点共 359 个。见表 1。

表 1 消癭丸药物活性成分及对应靶点

编号	分子名称	靶点数量
XS1	sugiol	49
XS2	beta-sitosterol	44
XS3	sitosterol	44
XS4	scropolioside D	21
XS5	harpagoside_qt	6
ZBM1	pelargonidin	100
ZBM2	beta-sitosterol	44
ZBM3	Peimisine	40
ZBM4	Zhebeiresinol	25
ZBM5	Ziebeimine	79
ZBM6	6-Methoxyl-2-acetyl-3-methyl-1,4-naphthoquinone-8-O-beta-D-glucopyranoside	7
ZBM7	Chaksine	86
ML1	Calcium Sulphate	4
ML2	Aluminum	2
ML3	Calcium Phosphate	2
总计	15 种	553 个

2.2 甲状腺结节相关疾病靶点

在 Gene Cards、Oimim 和 Therapeutic Target Database 数据库上筛选疾病靶点,汇总去重后得到疾病靶点 3652 个。

2.3 消癭丸治疗甲状腺结节的潜在靶点

将筛选得到的疾病靶点与药物靶点利用 Venny 2.1.0 软件进行交集,得到消癭丸治疗甲状腺结节的潜在靶点 185 个。见图 1。

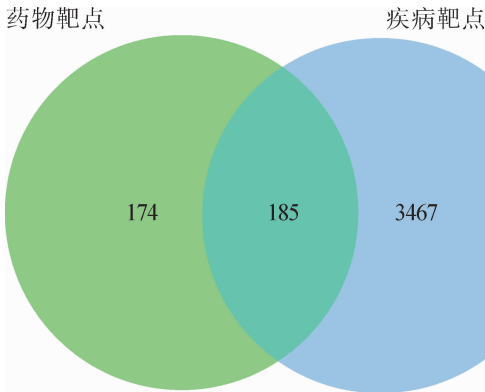


图 1 消癭丸治疗甲状腺结节潜在靶点韦恩图

2.4 活性成分-疾病-靶点网络图的构建

将筛选得到的数据整理后导入 Sytoscape 软件得到活性成分-疾病-靶点可视化网络图,该图直观地反映了消癭丸中的多种活性成分与治疗甲状腺结节之间的关系。见图 2。

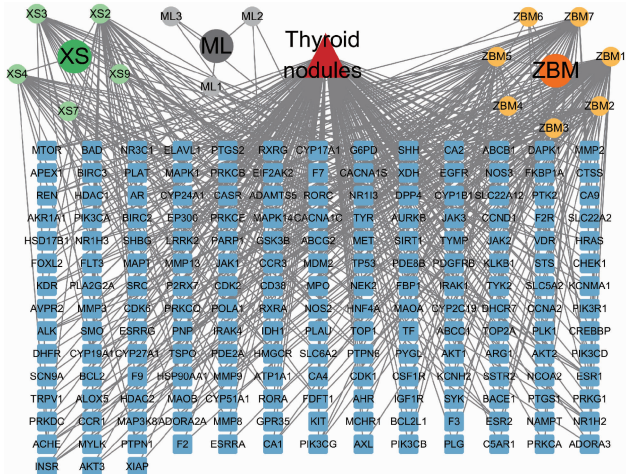


图 2 活性成分-疾病-靶点可视化网络图

2.5 PPI 网络图构建与核心靶点筛选

将上述 185 个潜在靶点导入 String 数据库获得靶点之间相互作用关系数据,将数据导入 Sytoscape 软件进行可视化观察并通过 SytoNCA 进行拓扑分析,依据中心性值(degree centrality,DC)进行排序,筛选出核心靶点为 AKT1、TP53、BCL-2、SRC、EGFR。见图 3。

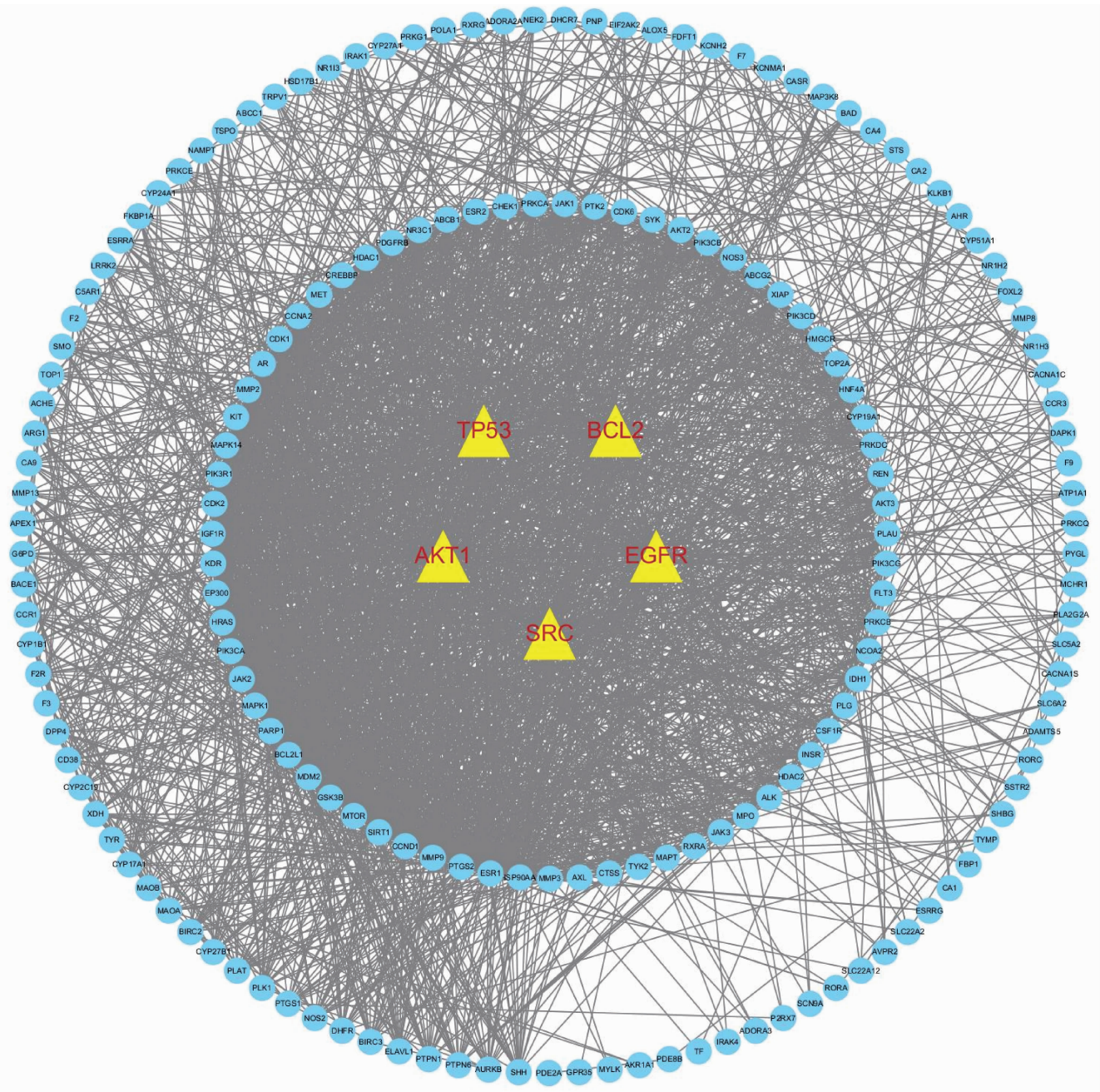


图 3 消瘰丸治疗甲状腺结节潜在靶点 PPI 网络图

2.6 GO 及 KEGG 富集分析

将 185 个潜在靶点导入 DAVID 数据库进行分析, 得到 GO 条目 901 条, 其中生物过程 (biological process, BP) 665 条、细胞组成 (cellular component, CC) 82 条、分子功能 (molecular function, MF) 154 条。按照 *P* 值由小到大排列, 分别选取排名前 10 位的共 30 条目进行富集分析, 借助微生信平台进行可视化。GO 富集分析结果显示, BP 主要集中在蛋白质磷酸化、凋亡的负调控、对异源性刺激的反应和信号传导等生物过程; CC 则主要包含质膜、大分子复合物、受

体复合物、核质及细胞质等; MF 主要涉及到蛋白激酶活性、ATP 结合、RNA 聚合酶 II 转录因子活性、配体激活序列特异性 DNA 结合和蛋白酪氨酸激酶活性等。见图 4。

KEGG 分析得到相关信号通路共 169 条, 按照 *P* 值由小到大排列, 选取前 20 条进行通路富集分析, 借助微生信平台进行可视化。KEGG 富集分析结果显示, 消瘰丸治疗甲状腺结节涉及到的通路主要包括癌症通路、甲状腺激素通路、PI3K-Akt 通路、化学致癌-受体激活通路等。见图 5。

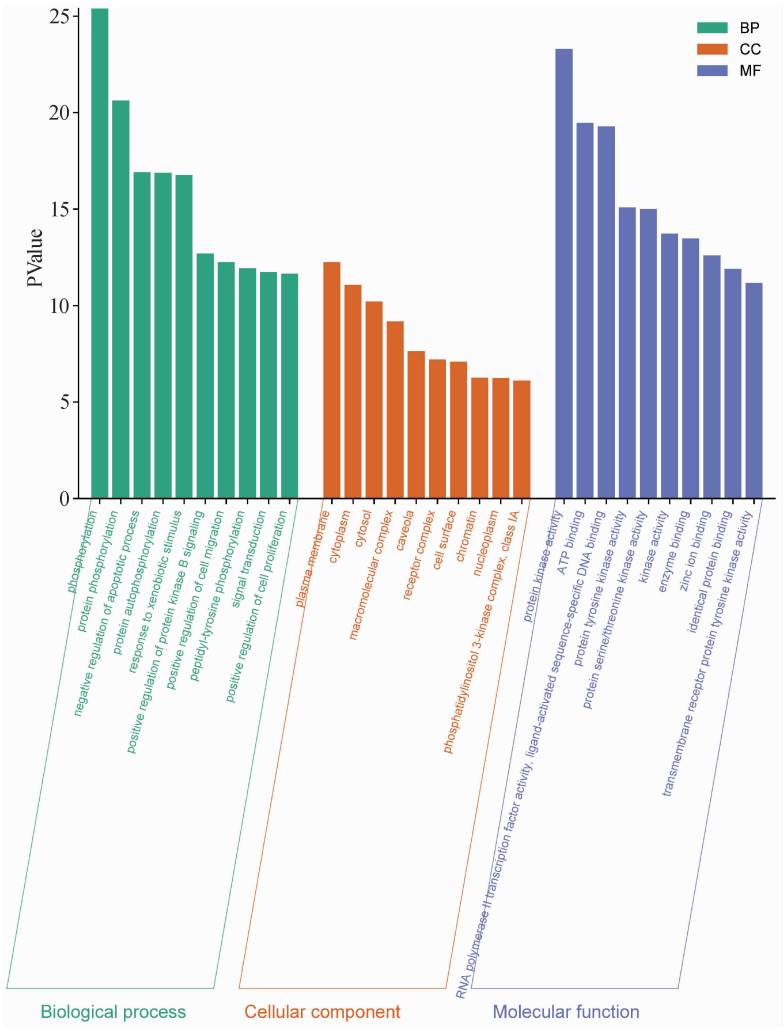


图 4 消瘰丸治疗甲状腺结节潜在靶点 GO 富集分析

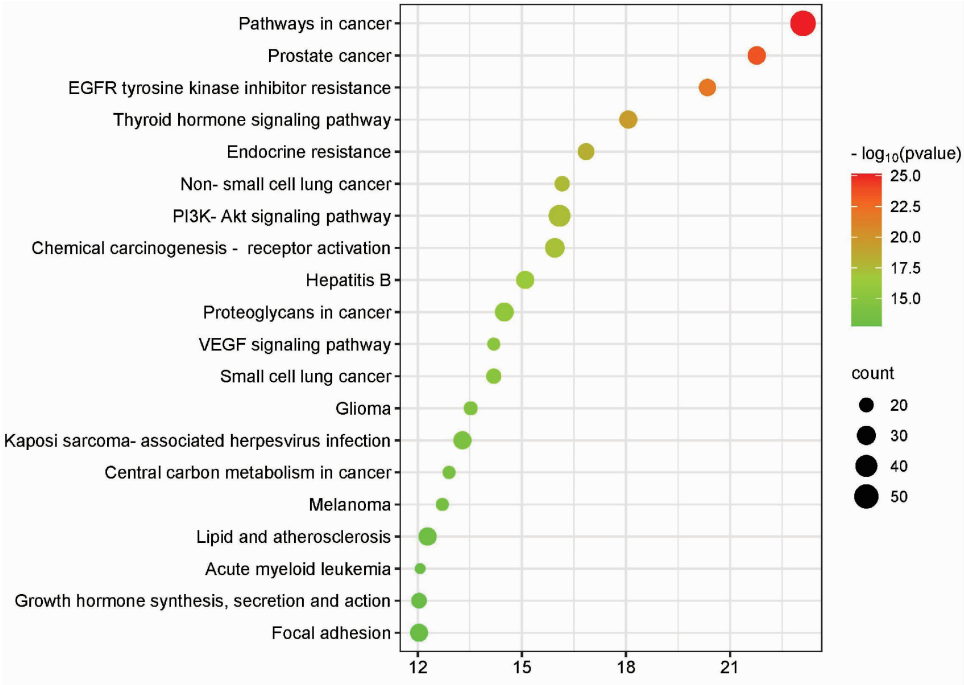


图 5 消瘰丸治疗甲状腺结节潜在靶点 KEGG 富集分析

3 讨论

本研究通过网络药理学分析的方法,筛选出消瘰丸治疗甲状腺结节的潜在靶点 185 个,表明消瘰丸治疗甲状腺结节具有很好的靶向性。通过进一步拓扑分析,筛选出核心靶点 5 个,包括 AKT1、TP53、BCL-2、SRC、EGFR。通过 KEGG 富集分析,初步发现了癌症通路、甲状腺激素通路、PI3K-Akt 通路、化学致癌-受体激活通路等信号通路在消瘰丸治疗甲状腺结节当中起到的关键作用。

蛋白激酶 B (protein kinases B, PKB), 又称 AKT, 是细胞信号传导过程中的 1 个关键分子, 参与调控细胞生长、分化、代谢和凋亡等多个过程。研究^[6]发现, 与正常组织相比, 甲状腺癌组织中的血管生成素样蛋白-4 (angiopoietin like protein 4, ANGPTL4) 含量增多, 并能够通过促进 AKT 的磷酸化从而促进细胞增殖并抑制细胞周期停滞, 从而导致肿瘤的发生。B 细胞淋巴瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2 gene, BCL-2) 作为一种关键的细胞凋亡调控因子, 能够通过抑制线粒体释放细胞色素 C, 从而抑制细胞凋亡的发生^[7]。甲状腺组织中 BCL-2 的过表达会使得滤泡细胞的正常凋亡被抑制, 引起甲状腺组织的异常增生从而形成甲状腺结节。TP53 是一种抑癌基因, 其编码蛋白能够调节靶基因的表达, 诱导细胞周期阻滞、细胞凋亡以及促进 DNA 的修复。TP53 突变被广泛发现于诸多癌症之中 (包括甲状腺癌)。1 项临床回顾性研究^[8]发现, 约 14% 的由细针穿刺活检 (fine needle aspiration biopsy, FNA) 确诊为甲状腺结节的患者存在分离的 TP53 突变, 剩余约 86% 的样本也均携带着 TP53 与其他遗传改变的组合突变。磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) 能够催化 ATP 上的 γ -磷酸转移至磷脂酰肌醇第 3 位羟基上, 具有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡的作用。PI3K-Akt 通路的异常激活在甲状腺肿瘤的发生中扮演着重要角色^[9]。研究^[10]表明, PI3K-Ak 信号通路能够磷酸化前体凋亡蛋白, 使其无法激活细胞凋亡途径。同时, 它还能使 FOXO 转录因子中的多个 Ser/Thr 残基磷酸化后与胞质中的磷酸丝氨酸结合蛋白结合, 从而使其无法进入细胞核, 凋亡基因因此也无法成功转录。这些生物过程都可促进甲状腺细胞的存活和增殖, 抑制甲状腺细胞的凋亡, 从而导致甲状腺结节甚至甲状

腺肿瘤的发生。

综上所述, 本网络药理学研究初步揭示了消瘰丸可能通过多个靶点对甲状腺结节起到治疗作用, 包括 AKT1、TP53、BCL-2、SRC、EGFR 等。此外, 还可能参与了癌症通路、甲状腺激素通路、PI3K-Akt 通路、化学致癌-受体激活通路等信号通路的调控, 从而影响甲状腺细胞的异常增殖、细胞凋亡相关基因的表达、组织修复等生物过程。

参 考 文 献

[1] 中华医学会内分泌学分会, 中华医学会外科学分会甲状腺及代谢外科学组, 中国抗癌协会头颈肿瘤专业委员会, 等. 甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南 (第二版) [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2023, 39(3): 181-226.

[2] 朱砚, 李敬华, 王素莉, 等. 甲状腺结节病因及危险因素的研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(15): 1701-1703.

[3] 于钊钊, 王强. 2008—2014 年我国健康成人甲状腺结节流行特征及影响因素初步分析 [J]. 环境与健康杂志, 2016, 33(5): 440-443.

[4] 李玉姝, 单忠艳, 滕卫平. 《甲状腺结节和分化型甲状腺癌诊治指南 (第二版)》解读 [J]. 中国实用内科杂志, 2023, 43(11): 884-889.

[5] 高天舒, 倪青. 甲状腺结节病证结合诊疗指南 (2022) [J]. 中医杂志, 2023, 64(4): 425-432.

[6] Yang L, Wang Y, Sun R, et al. ANGPTL4 promotes the proliferation of papillary thyroid cancer via AKT pathway [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 2299-2309.

[7] Xu W, Li X, Chen S, et al. Expression and distribution of S-100, CD83 and apoptosis-related proteins (Fas, FasL and Bcl-2) in tissues of thyroid carcinoma [J]. Eur J Histochem, 2008, 52(3): 153-162.

[8] Nikitski AV, Nikiforova MN, Yip L, et al. Can TP53-mutant follicular adenoma be a precursor of anaplastic thyroid carcinoma? [J]. Endocr Relat Cancer, 2021, 28(9): 621-630.

[9] Wang SC, Chai DS, Chen CB, et al. HPIP promotes thyroid cancer cell growth, migration and EMT through activating PI3K/AKT signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2015, 75: 33-39.

[10] Morovicz AP, Mazloumi Gavvani F, Jacobsen RG, et al. Phosphoinositide 3-kinase signalling in the nucleolus [J]. Adv Biol Regul, 2022, 83: 100843.

(收稿日期: 2024-04-17)