

基于网络药理学探讨香砂六君子汤抗甲状腺癌作用及靶点预测

黄开怀^{1,2,3}, 刘云业^{1,2,3}, 梁瑞敏^{1,2,3}, 郑国湾^{1,2,3}, 朱磊⁴, 宋法寰^{1,2,3}, 郭雅文^{1,2,3}

- 杭州医学院附属人民医院 浙江省人民医院耳鼻咽喉-头颈外科中心头颈外科, 浙江 杭州 310014
- 浙江省头颈部恶性肿瘤临床医学研究中心, 浙江 杭州 310014
- 全省头颈肿瘤精准医学研究重点实验室, 浙江 杭州 310014
- 温州医科大学附属第五医院 丽水市中心医院甲状腺外科, 浙江 丽水 323000

[摘要] **目的:**探究香砂六君子汤(XSLJZ)治疗甲状腺癌的活性成分及潜在分子机制。**方法:**利用中药系统药理学数据库和分析平台(TCMSP)筛选XSLJZ的药物有效活性成分及其靶点。运用GeneCards、在线人类孟德尔遗传数据库(OMIM)、DISGENET、DrugBank、癌症基因组图谱(TCGA)、基因表达综合数据库(GEO)及治疗靶点数据库(TTD)等七个生物信息学数据库筛选甲状腺癌相关靶点。通过构建蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络和“XSLJZ-药材-活性成分-潜在靶点-甲状腺癌”多层次网络筛选核心靶点,并通过基因本体(GO)功能注释、京都基因和基因组数据库(KEGG)通路进行富集分析,分子对接分析XSLJZ活性成分与靶点的结合能力。通过细胞计数试剂盒8(CCK-8)检测甲状腺癌细胞活性,流式细胞术检测甲状腺癌细胞死亡情况,克隆形成实验检验甲状腺癌细胞增殖能力,Transwell实验检验甲状腺癌细胞迁移能力,蛋白质印迹法检测目标蛋白表达。取6~8周龄雌性BALB/c裸鼠(体重15~16g)建立皮下移植瘤模型,于裸鼠侧腹部皮下注射 2×10^6 8505C细胞悬浮液。一周后,将裸鼠随机分为模型对照组(给予赋形剂)、XSLJZ小剂量组(XSLJZ 200 mg/kg)和XSLJZ大剂量组(XSLJZ 400 mg/kg),均每日一次灌胃,持续24 d,每组6只。每四天测量一次裸鼠的体重和肿瘤大小。苏木精-伊红染色和免疫组织化学染色观察组织病理学变化。**结果:**筛选出XSLJZ的五种主要活性成分(异甘草素、柚皮素、黄芩素、川陈皮素、甘草次酸)及45个XSLJZ治疗甲状腺癌的核心靶点。XSLJZ及五种活性成分可显著抑制甲状腺癌细胞增殖,对正常甲状腺细胞无明显毒性,异甘草素抑癌效果最突出。XSLJZ及五种



收稿日期(Received):2025-10-17 修改返回日期(Revised):2025-11-30 接受日期(Accepted):2026-01-15 网络预发表日期(Online):2026-06-12

基金项目(Funding):国家自然科学基金(82403142);浙江省医药卫生科技计划(2023RC001,2024KY032);浙江省中医药科技计划(2023ZL240);丽水市科技计划(2023GYX05)

第一作者(First author):黄开怀,硕士研究生,主要从事头颈外科肿瘤诊疗工作;E-mail:13587638078@163.com;ORCID:0009-0004-4954-6263

通信作者(Corresponding author):郭雅文,主治医师,主要从事头颈外科肿瘤诊疗工作;E-mail:gyw20072644@126.com;ORCID:0000-0002-9575-4192

活性成分均能诱导甲状腺癌细胞死亡,其中16 mg/mL XSLJZ处理后TPC1细胞死亡率达 $(84.91\pm 0.49)\%$;异甘草素与蛋白激酶B1(Akt1)、胱天蛋白酶(Caspase)-3、Caspase-9及聚ADP核糖聚合酶(PARP)的结合能较低,其中与PARP的结合能低至 -9.9 kcal/mol。XSLJZ及异甘草素可呈剂量依赖性抑制甲状腺癌细胞克隆形成和迁移能力,通过阻断晚期糖基化终末产物(AGE)-AGE受体(RAGE)→磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)/Akt信号轴下调RAGE、磷酸化PI3K及磷酸化Akt表达,上调促凋亡蛋白B细胞淋巴瘤蛋白2相关X蛋白(BAX)和线粒体细胞色素C,同时激活Caspase-3/9介导的细胞凋亡和消皮素E(GSDME)依赖的细胞焦亡。小、大剂量XSLJZ均抑制裸鼠移植瘤生长,下调肿瘤组织Akt和Ki-67表达(均 $P<0.05$),且对模型鼠心、肝、肾无明显毒性。**结论:**XSLJZ通过多成分-多靶点协同调控AGE-RAGE→PI3K/Akt通路抑制甲状腺癌细胞增殖并诱导细胞死亡。

[关键词] 甲状腺癌;香砂六君子汤;网络药理学;AGE-RAGE信号通路;PI3K/Akt信号通路;体外实验;裸鼠

[中图分类号] R736.1 [文献标志码] A

Network pharmacology-based investigation of the therapeutic efficacy and molecular targets of Xiangsha Liujunzi decoction in thyroid carcinoma

HUANG Kaihuai^{1,2,3}, LIU Yunye^{1,2,3}, LIANG Ruimin^{1,2,3}, ZHENG Guowan^{1,2,3}, ZHU Lei⁴, SONG Fahuan^{1,2,3}, GUO Yawen^{1,2,3} (1. Department of Head and Neck Surgery, Otolaryngology & Head and Neck Center, Zhejiang Provincial People's Hospital, Affiliated People's Hospital, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China; 2. Zhejiang Provincial Clinical Research Center for Head & Neck Cancer, Hangzhou 310014, China; 3. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Precision Medicine Research on Head & Neck Cancer, Hangzhou 310014, China; 4. Department of Thyroid Surgery, Lishui Central Hospital, the Fifth Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Lishui 323000, Zhejiang Province, China)

Corresponding author: GUO Yawen, E-mail: gyw20072644@126.com, ORCID: 0000-0002-9575-4192

[Abstract] **Objective:** To explore the active components and potential molecular mechanisms of Chinese medicine Xiangsha Liujunzi decoction (XSLJZ) in the treatment of thyroid carcinoma. **Methods:** Active components and corresponding targets of XSLJZ were screened using the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP). Thyroid cancer-related targets were collected from seven bioinformatics databases, including GeneCards, Online Mendelian Inheritance in Man Database (OMIM), DISGENET, DrugBank, The Cancer Genome Atlas (TCGA), Gene Expression Omnibus (GEO), and Therapeutic Target Database (TTD). A protein-protein interaction (PPI) network and a multi-level "XSLJZ-medicinal materials-active components-potential targets-thyroid carcinoma" network were constructed to identify core targets. Gene ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were performed, followed by molecular docking to assess binding affinities.

In vitro, cell counting kit-8 (CCK-8), flow cytometry, colony formation, Transwell, and Western blotting assays were used to evaluate cell viability, death, proliferation ability, migration, and protein expression in 8505C and TPC1 thyroid carcinoma cells. *In vivo*, a subcutaneous xenograft model was established in female BALB/c nude mice (6–8 weeks old, 15–16 g) by injecting 2×10^6 8505C cells. Mice were randomly divided into model control (vehicle), low-dose XSLJZ (200 mg/kg), and high-dose XSLJZ (400 mg/kg) groups ($n=6$ per group), receiving daily gavage for 24 days. Tumor volume and body weight were measured every four days. Histopathological changes were observed by hematoxylin and eosin staining and immunohistochemical staining. **Results:** Five major active components of XSLJZ (isoliquiritigenin, naringenin, baicalein, nobiletin, and glycyrrhetic acid) and 45 core targets for thyroid carcinoma were identified. XSLJZ and these five components significantly inhibited the proliferation of 8505C and TPC1 cells without notable toxicity to normal thyroid cells, with isoliquiritigenin showing the most prominent effect. Flow cytometry revealed that XSLJZ (16 mg/mL) induced up to $(84.91 \pm 0.49)\%$ death in TPC1 cells. Molecular docking showed low binding energies between isoliquiritigenin and protein kinase B 1 (Akt1), cysteine aspartic acid specific protease (Caspase)-3, Caspase-9, and poly ADP-ribose polymerase (PARP) (lowest -9.9 kcal/mol with PARP). XSLJZ and isoliquiritigenin dose-dependently suppressed colony formation and migration, downregulated receptor for advanced glycation end product (RAGE), phosphorylated phosphoinositide 3-kinase (PI3K), and phosphorylated Akt, upregulated B-cell lymphoma protein 2 associated X protein (BAX) and mitochondrial cytochrome c, and activated Caspase-3/9-mediated apoptosis and gasdermin E (GSDME)-dependent pyroptosis via the advanced glycation end product (AGE)-RAGE $\rightarrow$ PI3K/Akt axis. *In vivo*, both low and high doses of XSLJZ significantly inhibited tumor growth, reduced Akt and Ki-67 expression in tumor tissues (all $P < 0.05$), and showed no obvious toxicity to the heart, liver, or kidney. **Conclusion:** XSLJZ inhibits thyroid carcinoma cell proliferation and induces cell death through multi-component, multi-target synergistic regulation of the AGE-RAGE $\rightarrow$ PI3K/Akt signaling pathway.

[**Key words**] Thyroid cancer; Xiangshaliujunzi decoction; Network pharmacology; AGE-RAGE signaling pathway; PI3K/Akt signaling pathway; *In vitro* experiment; Nude mice

[J Zhejiang Univ (Med Sci), 2026, 55(6): 515-527.]

[**缩略语**] 香砂六君子汤 (Xiangsha Liujunzi decoction, XSLJZ); 细胞计数试剂盒8 (cell counting kit-8, CCK-8); 异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC); 碘化丙啶 (propidium iodide, PI); 苯甲基磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF); 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA); 聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF); 蛋白激酶B (protein kinase B, Akt); B细胞淋巴瘤蛋白2 (B-cell lymphoma protein 2, Bcl-2); Bcl-2相关细胞死亡激动蛋白 (Bcl-2 associated agonist of cell death, BAD); Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2 associated X protein, BAX); B淋巴细胞瘤特大蛋白 (B-cell lymphoma-extra large, Bcl-XL); 磷脂酰肌醇3激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K); 聚ADP核糖聚合酶 [poly ADP-ribose polymerase, PARP]; 胱天蛋白酶 (cysteine

aspartic acid specific protease, Caspase); 消皮素 E(gasdermin E, GSDME); 晚期糖基化终末产物(advanced glycation end product, AGE); AGE 受体(receptor for AGE, RAGE); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH); 苏木精-伊红染色(hematoxylin and eosin staining, HE 染色); 中药系统药理学数据库和分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP); 比较毒理基因组学数据库(Comparative Toxicogenomics Database, CTD); 在线人类孟德尔遗传数据库(Online Mendelian Inheritance in Man Database, OMIM); 治疗靶点数据库(Therapeutic Target Database, TTD); 癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA); 基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO); 蛋白-蛋白相互作用(protein-protein interaction, PPI); 基因本体(gene ontology, GO); 京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG); 组蛋白脱乙酰酶(histone deacetylase, HDAC)

甲状腺癌是全球发病率极高的癌症之一, 世界卫生组织国际癌症研究机构 GLOBOCAN 2020 数据库中显示 2020 年全球甲状腺癌病例数约为 58.6 万^[1-2]。甲状腺癌的治疗方法包括手术治疗、放射性碘治疗、甲状腺激素治疗、分子靶向治疗和免疫治疗^[3-4]。对于放射治疗失效的患者, 临床可选方案极为有限^[5]。

XSLJZ 源自清代《医宗金鉴》, 自 1792 年刊行以来即用于临床, 为健脾行气之名方^[6-7]。XSLJZ 经常被推荐为乳腺癌患者的草药疗法^[8-9], 且在胃癌^[10-11]、肺癌^[12]和胰腺癌^[13]治疗中显示出疗效, 但其对甲状腺癌的疗效尚未得到验证。本研究基于网络药理学并结合体内外实验, 系统阐述 XSLJZ 抗甲状腺癌的活性成分、核心靶点及分子机制, 为新药研发及临床精准治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物、细胞、材料和仪器

6~8 周龄雌性 BALB/c 裸鼠(体重 15~16 g)购自上海斯莱克实验动物有限公司[生产许可证号 SCXK(沪)2022-0004]。

人甲状腺癌细胞 8505C 购自德国微生物与细胞培养物保藏中心; 人甲状腺癌细胞 TPC1 以及人正常甲状腺细胞 Nthy-ori 3-1 购自中国科学院细胞库/干细胞库。细胞置于含 10% 胎牛血清(S-FBS-SA-015, 德国 SERANA 公司)的 RPMI-1640 培养基(C11875500BT, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司)中, 在 37 °C、含 5% 二氧化碳加湿培养箱中培养。

XSLJZ 中药饮片为浙江省人民医院草药药房

产品, 其中木香、砂仁和甘草为浙江佐力百草中药饮片有限公司产品, 半夏、陈皮、人参、白术和茯苓为浙江华润英特中药有限公司产品。CCK-8 溶剂(K1018)为美国 APEX BIO 公司产品; 4% 多聚甲醛(1004968350)为德国 Sigma-Aldrich 公司产品; 可穿透性细胞培养室(3428)为美国 Corning Costar Corp 公司产品; Annexin V-FITC/PI 试剂盒(AP101)为中国联科生物技术公司产品; PMSF(ST505)以及 Western 和 IP 裂解液(P0013)为中国碧云天生物技术公司产品, BCA 蛋白测定试剂盒(23228)为美国 Thermo Fisher Scientific 公司产品; PVDF 膜(BSP0161)为美国 PALL 公司产品; 抗 Akt(4691S)、抗磷酸化 Akt(4060S)、抗 BAD(9239T)、抗 BAX(12105T)、抗 Bcl-XL(2764T)、抗 PI3K(4257S)、抗磷酸化 PI3K(4228)、抗 PARP(9532)、抗 Caspase-9(9502)抗体、Akt(4685)均为美国 CST 公司产品; 抗 cleaved Caspase-9(ab2324)、抗 GSDME(ab215191)、抗 Caspase-3(ab184787)抗体为英国 Abcam 公司产品; 抗 active Caspase-3(ET-1602-47)抗体为中国华安生物技术公司产品; 抗 RAGE(16346-1-AP)、抗 Bcl-2(60178-1-Ig)、抗细胞色素 C(66264-1-Ig)、抗 GAPDH(60004-1-Ig)抗体、HE 染色试剂(PK10031)和 Ki-67(27309-1-AP)为中国武汉三鹰生物技术公司产品; 免疫组织化学试剂盒(36311ES50)为中国翌圣生物科技有限公司产品。

Synergy LX 多功能微孔板读数仪为美国 BioTek Instruments 公司产品; 高性能四激光台式流式细胞仪为中国 NovoCyte 公司产品; ChemiDoc-MP 成像仪为美国 Bio-Rad 公司产品。

1.2 筛选 XSLJZ 潜在作用靶点和甲状腺癌相关靶点

从 TCMSP(<http://lsp.nwu.edu.cn/tcmsp.php>) 获取 XSLJZ 的成分,以口服生物利用度 $\geq 30\%$ ^[14]、类药性 ≥ 0.18 ^[15-16]为标准筛选活性成分及靶蛋白。同时,利用 CTD(<https://ctdbase.org/>)对 TCMSP 的筛选结果进行补充。通过 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)将活性成分的蛋白名转换为基因 ID。

从 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://omim.org/>)、DISGENET(<https://www.disgenet.org/>)、DrugBank(<https://www.drugbank.ca/>)及 TTD(<http://db.idrblab.net/ttd/>)等数据库中获取甲状腺癌相关靶基因;从 TCGA 获取甲状腺乳头状癌相关靶基因;从 GEO(GSE29265、GSE76039 和 GSE33630)获取甲状腺未分化癌相关靶基因。将上述基因去重后得到甲状腺癌相关基因。

1.3 构建 PPI 网络和筛选核心靶点

将上述共有靶点导入 STRING 11.0 数据库(<https://string-db.org/STRING11.0>),限定物种为“Homo sapiens”,构建 PPI 网络;设置最低互作置信度 0.4 及以上,剔除孤立节点,以获得高可信互作关系。随后,借助 Cytoscape 3.7 构建“XSLJZ-药材-活性成分-潜在靶点-甲状腺癌”多层次网络,依据节点度值确定 XSLJZ 干预甲状腺癌的核心靶点。

1.4 GO 功能富集及 KEGG 通路富集分析

利用 DAVID(<https://da-vid.ncifcrf.gov/>)、ImageGP(<http://www.ehbio.com/ImageGP/>)和 Metascape(<http://metascape.org/>)数据库对 XSLJZ 治疗甲状腺癌的核心靶点进行 GO 分析和 KEGG 通路富集分析,以 $P \leq 0.05$ 为显著性阈值。

1.5 分子对接分析 XSLJZ 活性成分与靶点的结合能力

从 TCMSP 下载 XSLJZ 活性成分的 Mol2 分子结构文件,从 RCSB PDB 获取对应靶蛋白的三维晶体结构。借助 PyMOL 2.5.0 预先去除水分子及杂配体,若晶体含原生配体亦一并剔除,保证结合口袋洁净。随后,利用 AutoDock Tools 1.5.6 将受体蛋白和活性配体均转化为 pdbqt 格式,并借助 AutoDock Vina 1.1.2 执行半柔性对接,以结合自由能评估亲和力,结合能 -4.25 kcal/mol 及以下提示有一定结合活性, -5.0 kcal/mol 及以下提示

有较好结合活性, -7.0 kcal/mol 及以下提示有较强结合活性^[17]。对接完成后,通过 PyMOL 2.5.0 提取化合物优势构象,并采用 Discovery Studio Visualize 对高得分复合物进行二维相互作用图解和三维立体展示,直观呈现关键氢键、疏水作用及结合位点。

1.6 XSLJZ 冻干粉制备

参照中国药典 2020 年版^[18]香砂六君丸的制法和文献[6]中的方法制备 XSLJZ。将 2 g 木香、2.5 g 砂仁、3 g 半夏、2.5 g 陈皮、3 g 人参、6 g 白术、6 g 茯苓和 2 g 甘草浸泡 30 min,煮沸并先后使用 100、0.45 μm 的滤器过滤残渣。药液经真空冷冻干燥机制成粉末,持续 24~48 h。将粉末溶解于 1×磷酸盐缓冲液中,并使用 0.22 μm 的滤膜过滤,收集提取物备用。

1.7 CCK-8 检测细胞活性

将细胞接种于 96 孔板中,在 37 °C、含 5% 二氧化碳的加湿培养箱中培养 24 h。用不同浓度 XSLJZ 及主要活性成分处理细胞 24 h,对照组用浓度不超过 0.1% 的二甲基亚砜处理。上述不同方式处理细胞 24 h 后吸弃上清液,每孔加入 10 μL CCK-8 溶液和 90 μL 含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基。细胞在 37 °C、含 5% 二氧化碳的加湿培养箱中继续孵育 2 h,然后使用 Synergy LX 多功能微孔板读数仪测量各孔的吸光度值。实验重复三次。

1.8 流式细胞术检测甲状腺癌细胞死亡

将甲状腺癌细胞以 150 000/孔的密度接种于六孔板中,在 37 °C、含 5% 二氧化碳的加湿培养箱中培养 24 h。经 XSLJZ 及五种主要活性成分处理 24 h 后收集细胞及上清液,加入 1 μL Annexin V-FITC 和 2 μL PI 避光孵育 5~10 min 后使用流式细胞仪检测,并采用 Flowjo 软件定量分析。

1.9 克隆形成实验检测甲状腺癌细胞增殖能力

将甲状腺癌细胞以每孔 10 000 个的密度接种于六孔板中,在 37 °C、含 5% 二氧化碳的加湿培养箱中培养 24 h。分别用 XSLJZ(0、8 和 16 mg/mL)和异甘草素(0、50 和 100 $\mu\text{mol/L}$)处理,24 h 时用显微镜观察细胞形态。孵育至一周时用 4% 多聚甲醛固定细胞,再用 0.1% 结晶紫染色。实验重复三次,采用 ImageJ 软件定量分析。

1.10 Transwell 实验检测甲状腺癌细胞迁移能力

将甲状腺癌细胞接种到具有无血清培养基的

上室,并用800 μL 含10%胎牛血清及不同浓度药物(XSLJZ:0、8和16 mg/mL;异甘草素:0、50和100 $\mu\text{mol/L}$)的培养基填充下室。然后,将24孔板放在37 $^{\circ}\text{C}$ 、含5%二氧化碳的加湿培养箱中孵育24 h。滤膜背面的迁移细胞用4%多聚甲醛固定30 min,0.01%结晶紫染色30 min,光学显微镜下拍照。实验重复三次,采用ImageJ软件进行定量分析。

1.11 蛋白质印迹法检测目标蛋白表达

将细胞以每孔15 000个的密度接种于六孔板中,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、含5%二氧化碳的加湿培养箱中培养24 h。分别用XSLJZ和异甘草素处理细胞24 h后,用含有PMSF的Western和IP裂解液在冰上裂解细胞(包括贴壁细胞和从上清液中收集的细胞)。用BCA蛋白测定试剂盒测定总蛋白。等量蛋白经SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移到PVDF膜上。膜在室温下用5%脱脂奶粉封闭,随后在4 $^{\circ}\text{C}$ 下用含5%牛血清白蛋白的特异性一抗孵育过夜。使用ChemiDoc-MP成像仪成像,条带用ImageJ软件分析。

1.12 制备皮下移植瘤裸鼠模型

将 2×10^6 的8505C细胞悬浮液(100 μL)皮下注射到雌性裸鼠的侧腹部。一周后,将小鼠随机分为模型对照组、XSLJZ小剂量组(200 mg/kg)和XSLJZ大剂量组(400 mg/kg),每组6只。其中,XSLJZ组每日一次灌胃给药^[19-21],模型对照组给予赋形剂(5%二甲基亚砷+30%聚乙二醇300+10%吐温-80+55%磷酸盐缓冲液)每日一次灌胃,各组均持续灌胃给药24 d。每四天测量一次小鼠的体

重和肿瘤大小,计算肿瘤体积: $0.5 \times \text{最小直径}^2 \times \text{最大直径}$ 。实验结束后处死所有模型鼠并摘取肿瘤。

1.13 HE染色和免疫组织化学染色观察组织病理学变化

小鼠组织标本经4%甲醛处理、石蜡包埋并切成5 μm 厚的切片。组织切片在95%、80%、70%和50%的乙醇中梯度脱水后进行HE染色或免疫组织化学染色,具体操作步骤参照试剂盒说明书。实验重复三次,采用ImageJ软件定量分析。HE染色以视野内正常形态细胞核占比为定量指标,免疫组织化学染色以目标通路信号分子的阳性染色面积作为定量依据。

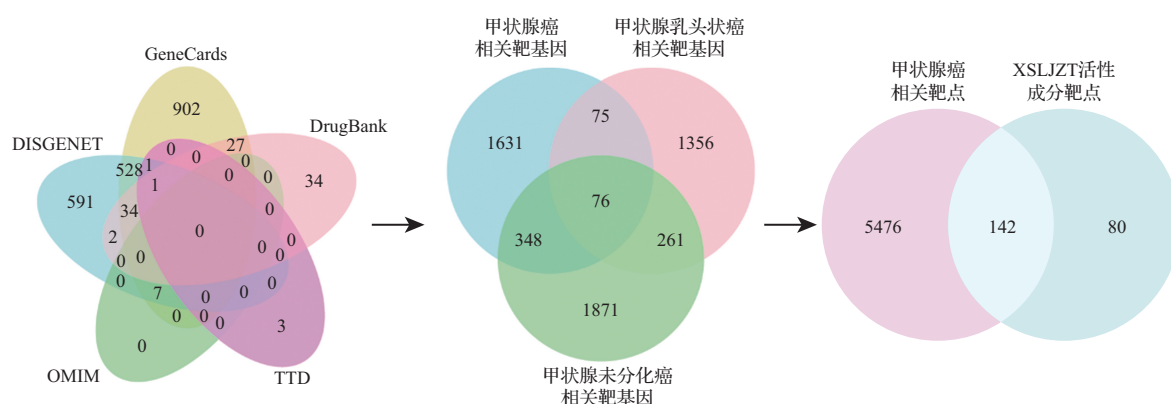
1.14 统计学方法

使用GraphPad Prism 8.0.2软件进行统计分析。定量数据先进行正态分布检验,符合正态分布者以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,事后检验采用Dunnett's *t*检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 XSLJZ活性成分和潜在作用靶点

共筛选出142个XSLJZ治疗甲状腺癌的潜在靶点(图1)。XSLJZ-药材-活性成分-潜在靶点-甲状腺癌网络关系见附图1,依据图中活性成分与靶点间边的数量,得到XSLJZ前十种活性成分(表1)。根据PPI网络中的度值,获得70个XSLJZ治疗甲状腺癌的关键靶点(附图2~3),前15位靶点见表2。GO富集分析显示,多数靶点



OMIM:在线人类孟德尔遗传数据库;TTD:治疗靶点数据库;TCGA:癌症基因组图谱;GEO:基因表达综合数据库;XSLJZ:香砂六君子汤。

图1 XSLJZ活性成分与甲状腺癌相关靶点的韦恩图

Figure 1 Venn diagram showing the overlap between active ingredients of XSLJZ and thyroid carcinoma-related targets

表1 XSLJZ中活性成分的化学信息

Table 1 Chemical information for the active compounds of XSLJZ

编 号	成分名称	PubChem CID	分子式	分子量	类药性	口服生物利用度(%)
C1	柚皮素	932	C15H12O5	272.25	0.21	59.29
C2	山柰酚	5280863	C15H10O6	286.24	0.24	41.88
C7	豆固醇	5280794	C29H48O	412.70	0.76	43.83
C8	黄芩素	5281605	C15H10O5	270.24	0.21	33.52
C9	异甘草素	638278	C15H12O4	256.25	0.15	85.32
C12	川陈皮素	72344	C21H22O8	402.40	0.52	61.67
C13	松萜	5280372	C16H22O8	342.34	0.27	31.11
C15	β -谷甾醇	222284	C29H50O	414.70	0.75	36.91
C16	甘草次酸	10114	C30H46O4	470.70	0.74	22.05
C21	甘草素	114829	C15H12O4	256.25	0.18	71.12

异甘草素、甘草次酸以及甘草素通过比较毒理基因组学数据库检索确定。XSLJZ:香砂六君子汤。

定位于可调控转录以及参与细胞增殖、迁移和死亡的通路;KEGG 功能富集分析显示,关键靶点主要富集于与 AGE-RAGE 及 PI3K/Akt 信号通路相关的通路(附图4)。

2.2 XSLJZ 及五种活性成分抑制甲状腺癌细胞增殖

CCK-8 实验结果显示,XSLJZ 及异甘草素、柚皮素、黄芩素、川陈皮素、甘草次酸均能显著抑制两种甲状腺癌细胞活性,其中以异甘草素效果最

表2 XSLJZ 治疗甲状腺癌的前 15 位靶点

Table 2 Top 15 core targets of XSLJZ in the treatment of thyroid carcinoma

名 称	节点度值	平均最短路径长度	接近中心性	邻域连接度	有向边
RELA	4	2.23	0.45	21.3	4
PTGS2	4	2.16	0.46	23.8	4
Bcl-2	4	2.09	0.48	24.0	4
NOS2	3	2.80	0.36	18.0	3
PTGS1	3	2.38	0.42	27.0	3
HSP90AA1	3	2.38	0.42	27.0	3
CASP3	3	2.46	0.41	23.3	3
BAX	3	2.53	0.40	23.0	3
Akt1	3	2.46	0.41	23.3	3
TNF	2	3.32	0.30	14.5	2
NFKBIA	2	3.32	0.30	14.5	2
IL6	2	3.32	0.30	14.5	2
CASP9	2	3.02	0.33	19.5	2
PPARG	2	2.78	0.36	26.0	2
ESR2	2	2.78	0.36	26.0	2

XSLJZ:香砂六君子汤。

为突出,而上述化合物对正常甲状腺细胞几乎无毒性。相比之下,山柰酚、甘草素、松萜、 β -谷甾醇和豆固醇的抑癌活性则不明显。见附表1。异甘草素、柚皮素、黄芩素、川陈皮素、甘草次酸对应的甲状腺癌治疗靶点共45个,即核心靶点,其网络关系见附图5。结果提示,XSLJZ 及异甘草素、柚皮素、黄芩素、川陈皮素、甘草次酸对甲状腺癌细胞具显著杀伤效应,且具有良好的安全性,上述成分与甲状腺癌核心靶点的靶向关联进一步提示其抗甲状腺癌作用的有效性和

科学性。

2.3 XSLJZ 及五种活性成分诱导甲状腺癌细胞死亡

流式细胞术检测结果显示,XSLJZ 及异甘草素、柚皮素、黄芩素、川陈皮素、甘草次酸能够诱导甲状腺癌细胞死亡(表3、附图6),其中异甘草素的作用效果最为显著。分子对接分析结果显示,异甘草素与 Akt、Caspase-3、Caspase-9 及 PARP 的结合能分别为-9.8、-6.0、-6.9 和-9.9 kcal/mol(附图7),表明 Akt、Caspase-3、Caspase-9 及 PARP 可能是异甘草素治疗甲状腺癌的潜在靶点。

2.4 XSLJZ 和异甘草素通过 AGE-RAGE 和 PI3K/Akt 通路抑制甲状腺癌细胞增殖、转移并促进其死亡

以不同剂量 XSLJZ 或异甘草素处理甲状腺癌细胞,显微镜下可见细胞出现膨胀、膜破裂等典型焦亡形态,并伴凋亡(图2),细胞集落形成能力和迁移能力显著下降(表4,附图8~9)。蛋白质印迹法检测结果显示,AGE-RAGE $\rightarrow$ PI3K/Akt 通路的起始受体 RAGE 表达量下调;核心蛋白 PI3K、磷酸化 PI3K、Akt 以及磷酸化 Akt 表达量下调;通路下游 cleaved Caspase-3、cleaved Caspase-9 及 cleaved PARP 蛋白表达量上调,而 Caspase-3、Caspase-9 及 PARP 下调;焦亡标志蛋白 GSDME-N 片段表达随 XSLJZ 和异甘草素剂量增加而上调;凋亡相关蛋白中,BAD、BAX 表达上调,Bcl-2、Bcl-XL 表达下调;线粒体凋亡通路信号细胞色素 c

表3 不同浓度 XSLJZ 及五种活性成分干预后甲状腺癌细胞死亡比例比较

Table 3 Percentage of dead thyroid carcinoma cells after treat-ment with various concentrations of XSLJZ or its five active components

		(%, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)	
		死亡细胞比例	
药 物		8505C	TPC1
XSLJZ	0 mg/mL	2.22±0.27	4.94±0.61
	8 mg/mL	17.98±0.95**	42.71±0.72**
	16 mg/mL	61.83±1.13**	84.91±0.49**
异甘草素	0 μ mol/L	3.65±0.78	9.69±2.67
	50 μ mol/L	49.26±4.33**	17.73±4.47*
	100 μ mol/L	65.79±3.95**	56.92±2.02**
柚皮素	0 μ mol/L	1.61±0.76	8.07±0.33
	250 μ mol/L	16.40±1.52**	10.02±0.47*
	500 μ mol/L	60.26±2.69**	50.43±0.97**
黄芩素	0 μ mol/L	7.62±2.12	11.11±1.48
	50 μ mol/L	32.17±3.43**	19.00±5.22*
	100 μ mol/L	39.21±1.88**	33.51±0.60**
川陈皮素	0 μ mol/L	2.17±0.44	11.51±1.17
	40 μ mol/L	5.24±0.53**	10.88±1.66
	80 μ mol/L	6.73±0.52**	14.06±0.65
甘草次酸	0 μ mol/L	3.20±1.15	7.66±0.62
	100 μ mol/L	33.02±3.07**	66.45±3.90**
	200 μ mol/L	47.10±8.18**	98.69±0.29**

与0 mg/mL或0 μ mol/L比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。XSLJZ:香砂六君子汤。

表达上调(图3、附表2~3)。结果提示,XSLJZ及异甘草素可能通过AGE-RAGE→PI3K/Akt通路抑制PI3K/Akt表达,同步激活细胞凋亡和焦亡,从而抑制甲状腺癌细胞增殖和迁移。

2.5 XSLJZ抑制荷瘤裸鼠生长

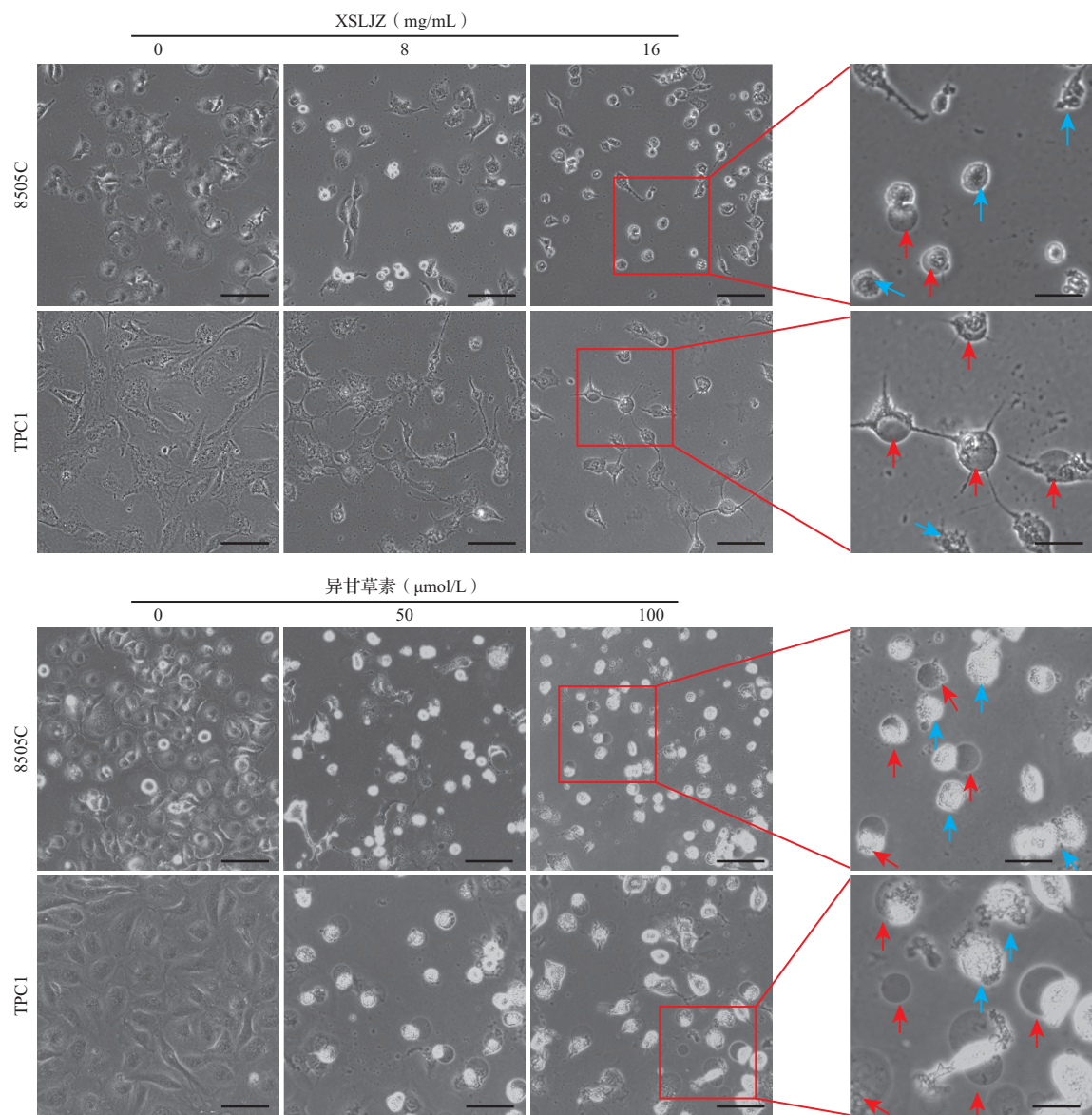
裸鼠模型观察结果显示,200、400 mg/kg的XSLJZ均显著抑制肿瘤生长,两组间差异无统计学意义(图4)。HE染色结果显示,XSLJZ处理后肿瘤组织中部分肿瘤细胞体积缩小,细胞质致密,细胞核固缩并深染。免疫组织化学染色结果显示,XSLJZ处理后肿瘤组织Akt和Ki-67表达显著下调,进一步证实其能抑制肿瘤细胞增殖(表5、附图10)。在安全性方面,给药期间小鼠体重无显著变化(均 $P>0.05$),心、肝、肾组织形态正常(图5~6),提示该剂量耐受性良好。可见XSLJZ可在体内抑制甲状腺癌生长并诱导肿瘤细胞死亡且安全性良好。

3 讨 论

近二十年来,全球甲状腺癌发病率持续攀升。甲状腺髓样癌和分化型甲状腺癌虽以手术为主,但初诊时约5%患者已出现远处转移^[22-24]。甲状腺未分化癌虽仅占2%,却呈高度侵袭性,超过40%甲状腺未分化癌患者表现为广泛局部浸润、区域淋巴结及远处转移,失去根治切除机会,患者预后极差,中位生存时间仅4个月^[25-28]。因此,开发能够阻断肿瘤进展及转移的新型高效药物及综合干预策略,已成为改善患者术后生存、降低复发风险并延长患者生命的当务之急。

中药通过调控细胞周期、诱导凋亡和自噬、阻断上皮-间充质转化等多条途径有效抑制肿瘤细胞增殖和转移,并促进癌细胞死亡,且毒副作用低、耐受性良好,作用可贯穿癌症治疗全程^[29-30]。近年来,网络药理学借助大数据和系统生物学,将“多成分-多靶点-多通路”理念引入中药研究,成功解析复方协同机制,为揭示中药复杂作用模式提供新范式^[31-32]。本研究借助网络药理学,从XSLJZ中筛选出异甘草素、柚皮素等五种核心活性成分,经PPI网络分析及度值筛选得45个高关联核心靶点;GO和KEGG富集分析显示,这些靶点主要富集于调控转录、细胞增殖、迁移和死亡等相关通路;对诱导甲状腺癌细胞死亡最为显著的异甘草素进行分子对接,进一步确定Caspase-3、Caspase-9、PARP、Akt为关键结合蛋白及核心靶点,实验证实XSLJZ的活性成分可通过协同作用精准结合核心靶点,阻断AGE-RAGE→PI3K/Akt信号轴,体外可抑制8505C和TPC1细胞增殖和迁移、诱导凋亡及焦亡,体内能显著抑制甲状腺癌移植瘤生长。上述结果清晰呈现了XSLJZ多成分协同、多靶点联动的抗甲状腺癌机制,彰显了网络药理学在中药复方研究中的独特价值。

PI3K/Akt轴是驱动甲状腺癌增殖和转移的核心信号通路,其异常磷酸化可加速细胞周期、抑制凋亡并促进远处播散^[33-34]。此外,该信号通路在甲状腺癌的进展中也起着至关重要的作用^[35-36]。研究表明,配体AGE与其受体RAGE结合后激活PI3K/Akt信号通路,该通路可调控多个参与细胞周期、转移和凋亡的下游转录因子^[37]。本文资料提示XSLJZ通过抑制AGE-RAGE相互作用来削弱PI3K/Akt信号通路,进而影响甲状腺癌细胞的



药物浓度越高,呈现凋亡表型(皱缩、核固缩)和焦亡表型(膨胀、膜破裂、释放炎性内容物)的细胞越多.蓝色箭头指示凋亡细胞,红色箭头指示焦亡细胞;红色矩形指示局部放大区域.最右侧列图标尺=7 μm,其他图标尺=20 μm. XSLJZ: 香砂六君子汤.

图2 不同浓度XSLJZ或异甘草素给药后甲状腺癌细胞显微镜下典型形态

Figure 2 Representative morphology of thyroid carcinoma cells after treatment with XSLJZ or isoliquiritigenin

增殖、迁移、凋亡和焦亡。同时,XSLJZ中的活性成分异甘草素能够与Akt、Caspase-3、Caspase-9和PARP结合,从而抑制甲状腺癌进展。

细胞死亡传统上分为非程序性和程序性两大类。焦亡是近年备受关注的程序性细胞死亡新路径,由炎症小体点燃,最终依赖gasdermin家族蛋白执行。其典型形态学序列为:质膜打孔→渗透压失衡→细胞鼓胀→膜破裂→细胞内炎性内容物外泄,兼具凋亡的调控性和坏死的免疫原性^[38-39]。GSDME是焦亡的关键效应蛋白:全长蛋白处于静默状态,一旦被Caspase-3精准剪切,其

氨基端活性片段迅速转位至细胞膜,寡聚成直径10~15 nm的跨膜孔道,离子流和水分大量流入,细胞瞬间爆裂而亡。前期研究证实,DHHC7催化GSDME S-棕榈酰化,促其与Caspase结合剪切并膜转位;酰基蛋白硫酯酶2则去棕榈酰化,驱动GSDMD-NT寡聚,两者精准掌控焦亡开关^[40]。此外,GSDMD K248位点乙酰化可点燃焦亡,而HDAC4介导其脱乙酰化灭火,蛋白磷酸酶1通过调控HDAC4磷酸化参与该过程,且乙酰化与泛素化存在交叉对话,共同微调焦亡强度^[41]。本文资料显示,XSLJZ及其核心活性成分异甘草

表4 不同浓度XSLJZ或异甘草素处理后甲状腺癌细胞克隆形成以及细胞迁移面积比较

Table 4 Quantification of colony formation area and cell migration area in thyroid carcinoma cells treated with XSLJZ or isoliquiritigenin

(%, $\bar{x}\pm s,n=3$)

药 物	克隆形成面积		细胞迁移面积	
	8505C	TPC1	8505C	TPC1
XSLJZ	0 mg/mL	100.00±16.55	100.00±17.97	100.00±0.37
	8 mg/mL	58.79±19.20**	60.11±23.20**	67.28±0.21**
	16 mg/mL	9.03±9.61**	17.85±17.05**	28.14±0.31**
异甘草素	0 μmol/L	100.00±0.39	100.00±0.68	100.00±1.20
	50 μmol/L	51.21±0.29**	88.08±0.35**	61.94±0.21**
	100 μmol/L	36.21±0.06**	44.61±0.07**	25.97±0.53**

与0 mg/mL或0 μmol/L比较,** $P<0.01$. XSLJZ:香砂六君子汤.

素可显著上调Caspase-3活性,促使GSDME裂解为氨蛋白磷酸酶1基端片段,并诱导甲状腺癌细胞发生典型焦亡^[42-43].该发现不仅拓展了中药诱导程序性死亡的模式谱,也为破解甲状腺癌凋亡抵抗提供了焦亡新策略,为临床开发低毒、高效的天然小分子制剂奠定理论和实验基础.

综上,本文资料从“成分-靶点-通路”到动物水平系统验证了XSLJZ治疗甲状腺癌的

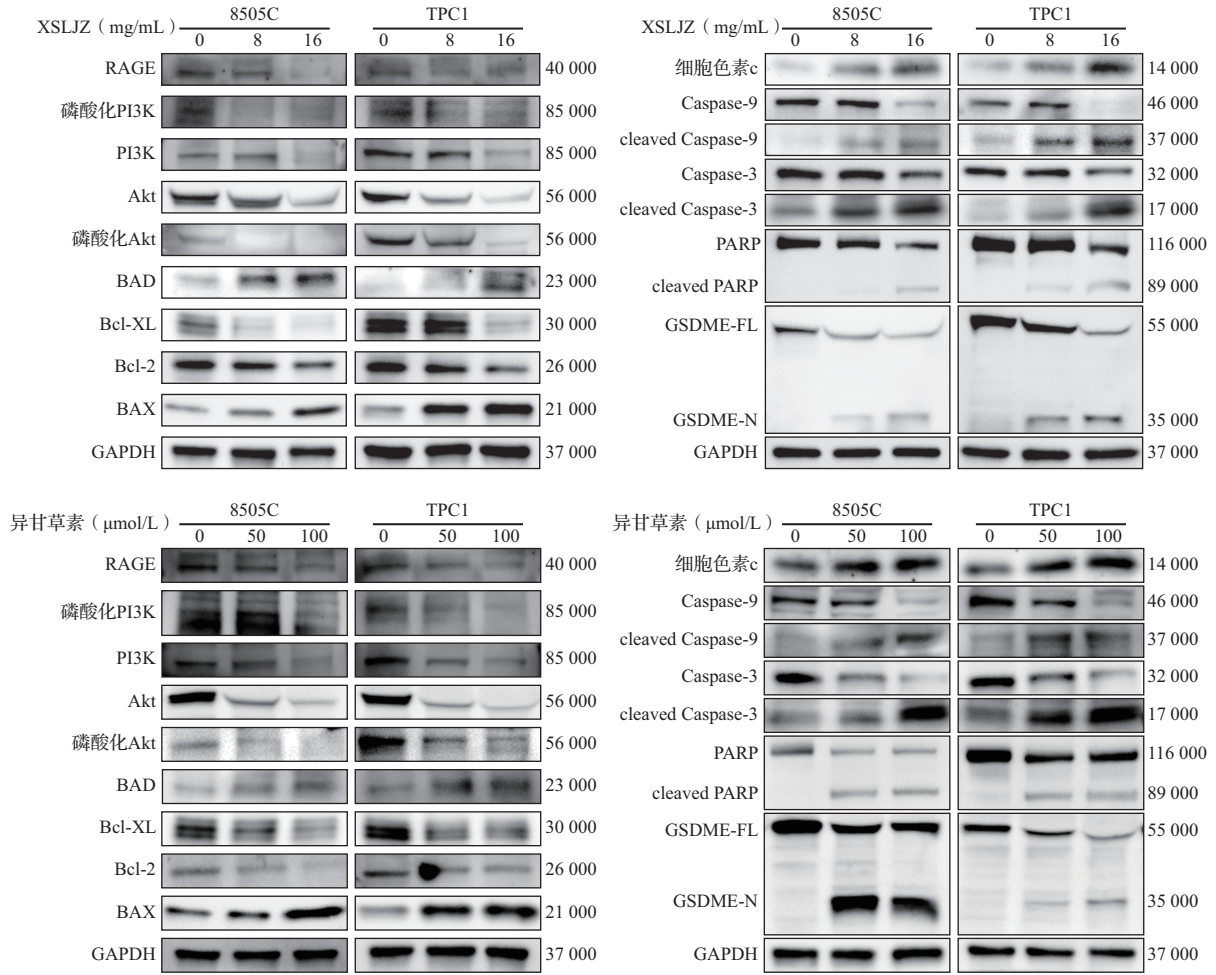


图3 不同浓度XSLJZ或异甘草素处理24 h后甲状腺癌细胞中AGE-RAGE、PI3K-Akt信号通路及细胞凋亡和焦亡相关蛋白电泳图

Figure 3 Electrophoretogram of proteins involved in the AGE-RAGE, PI3K/Akt signaling pathways, as well as apoptosis- and pyroptosis-related proteins in thyroid carcinoma cells treated with XSLJZ or isoliquiritigenin for 24 h

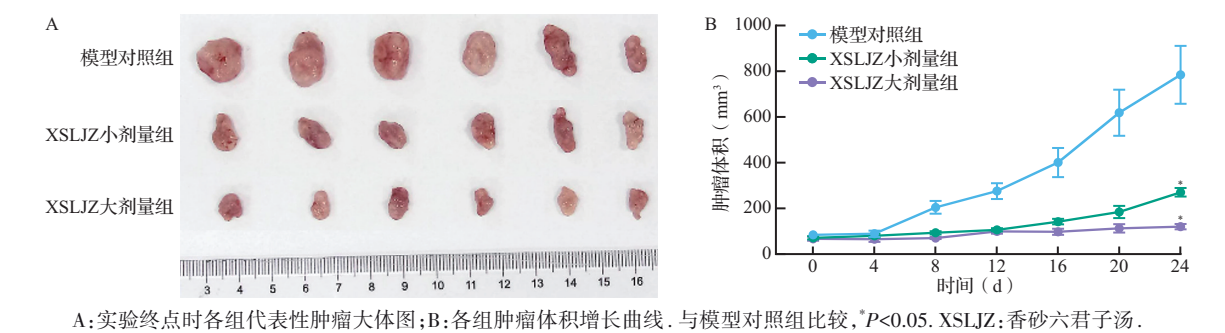


图4 各组甲状腺肿瘤生长情况
Figure 4 Thyroid tumor growth in each group

表5 各组肿瘤组织HE染色及免疫组织化学染色定量分析结果比较

Table 5 Quantitative analysis results of HE staining and immunohistochemical staining of tumor tissues
(%, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	正常形态细胞核占比	Ki-67阳性占比	Akt阳性占比
模型对照组	53.16 $\pm$ 4.17	8.28 $\pm$ 0.92	29.01 $\pm$ 1.10
XSLJZ小剂量组	22.58 $\pm$ 2.52*	1.12 $\pm$ 0.19**	7.83 $\pm$ 0.82**
XSLJZ大剂量组	35.97 $\pm$ 2.04**	0.52 $\pm$ 0.23**	2.96 $\pm$ 0.16**

与模型对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. HE染色: 苏木精-伊红染色; XSLJZ: 香砂六君子汤.

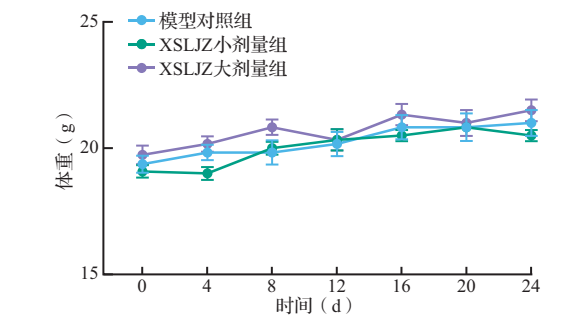
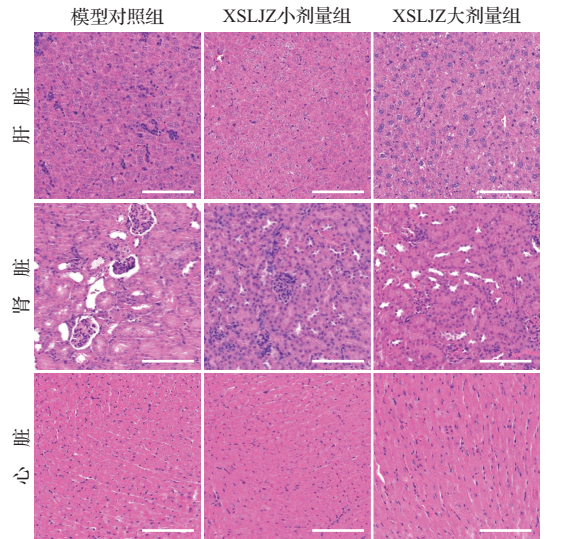


图5 各组体重变化曲线
Figure 5 Body weight changes in each group

多分子协同机制, 即XSLJZ内活性成分可嵌入Caspase-3/9、PARP及Akt1的活性口袋, 阻断AGE-RAGE $\rightarrow$ PI3K/Akt轴, 进而诱导甲状腺癌细胞走向GSDME及PARP介导的焦亡及凋亡。提示XSLJZ或可为碘难治及甲状腺未分化癌患者提供安全、可口服的中药新策略。未来尚需扩大样本量、开展药代动力学和早期临床探索, 以推动其向临床转化。

本文附加文件见电子版。



给药期间荷瘤鼠肝、肾、心脏组织病理学无改变. 标尺=100 μ m. HE染色: 苏木精-伊红染色; XSLJZ: 香砂六君子汤.

图6 各组肝、肾、心脏组织病理学表现(HE染色)
Figure 6 Representative histopathological findings of liver, kidney, and heart sections in each group (HE staining)

志谢 本研究得到国家自然科学基金(82403142)、浙江省医药卫生科技计划(2023RC001, 2024KY032)、浙江省中医药科技计划(2023ZL240)、丽水市科技计划(2023GYX05)支持

Acknowledgements This study was supported by National Natural Science Foundation of China (82403142), Medical and Health Science and Technology Project of Zhejiang Province (2023RC001, 2024KY032), Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project of Zhejiang Province (2023ZL240), and Lishui Science and Technology Program (2023GYX05)

作者贡献 黄开怀、刘云业、梁瑞敏、郑国湾、朱磊、宋法寰和郭雅文参与论文选题和设计或参与资料获取、分析或解释, 起草研究论文或修改重要智力性内容. 所有作者

均已阅读并认可最终稿件,并对数据的完整性和安全性负责.具体见电子版

Author Contributions HUANG Kaihuai, LIU Yunye, LIANG Ruimin, ZHENG Guowan, ZHU Lei, SONG Fahuan and GUO Yawen participated in brewing and designing experiments, or acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; drafting the work, or revising it critically for important intellectual content. All authors have read and approved the final manuscript, and take responsibility for the integrity and security of the data. See the electronic version for details

数据可用性 本研究的相关数据可根据合理请求从通信作者(E-mail:gyw20072644@126.com)处获得

Data Availability All relevant data supporting the findings of this study can be accessed upon reasonable request from the corresponding author at gyw20072644@126.com

医学伦理 本研究遵循国家和浙江省人民医院有关实验动物管理和使用的规定,通过浙江省人民医院实验动物福利伦理委员会审查(20230612131406343485)

Ethical Approval All applicable national guidelines and Zhejiang Provincial People's Hospital regulations for the care and use of animals were followed, and the research protocol of animal experiments was approved by the Ethics Committee of Zhejiang Provincial People's Hospital (20230612131406343485)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

参考文献(References)

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] GRIMM D. Recent advances in thyroid cancer research[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4631.
- [3] SCHLUMBERGER M, LEBoulLEUX S. Current practice in patients with differentiated thyroid cancer[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(3): 176-188.
- [4] LUSTER M, CLARKE S E, DIETLEIN M, et al. Guidelines for radioiodine therapy of differentiated thyroid cancer[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imag*, 2008, 35(10): 1941-1959.
- [5] HERRANZ U A. Use of multikinase inhibitors/lenvatinib concomitant with radioiodine for the treatment of radioiodine refractory differentiated thyroid cancer[J]. *Cancer Med*, 2022, 11(S1): 47-53.
- [6] SHIH Y S, TSAI C H, LI T C, et al. The effect of Xiang-Sha-Liu-Jun-Zi Tang (XSLJZT) on irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 238: 111889.
- [7] SHIAH H S, LEE C J, LEE F Y, et al. Chemopreventive effects of Xiang Sha Liu Jun Zi Tang on paclitaxel-induced leucopenia and neuropathy in animals[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1106030.
- [8] LEE Y W, CHEN T L, SHIH Y V, et al. Adjunctive traditional Chinese medicine therapy improves survival in patients with advanced breast cancer: a population-based study[J]. *Cancer*, 2014, 120(9): 1338-1344.
- [9] XIAO H, LIU L, KE S, et al. Efficacy of Xiang-Sha-Liu-Jun-Zi on chemotherapy-induced nausea and vomiting: a protocol for systematic review and meta-analysis[J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2021, 100(19): e25848.
- [10] HONG X C, LIANG Q L, LUO X B, et al. Clinical study of XiangShaLiuJunZi decoction combined with S-1 as maintenance therapy for stage III or IV gastric carcinoma and colorectal carcinoma[J/OL]. *Medicine*, 2020, 99(19): e20081.
- [11] JIANG K, LIU H, GE J, et al. A study related to the treatment of gastric cancer with Xiang-Sha-Liu-Jun-Zi-Tang based on network analysis[J/OL]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e19546.
- [12] SU X L, WANG J W, CHE H, et al. Clinical application and mechanism of traditional Chinese medicine in treatment of lung cancer[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(24): 2987-2997.
- [13] TARASIUK A, MIROCHA G, FICHNA J. Current status of complementary and alternative medicine interventions in the management of pancreatic cancer—an overview[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2023, 24(12): 1852-1869.
- [14] XU X, ZHANG W, HUANG C, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(6): 6964-6982.
- [15] WEI X, XIE F, ZHOU X, et al. Role of pyroptosis in inflammation and cancer[J]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(9): 971-992.
- [16] TAO W, XU X, WANG X, et al. Network pharmacology-based prediction of the active ingredients and potential targets of Chinese herbal Radix Curcumae formula for application to cardiovascular disease[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 145(1): 1-10.
- [17] SHEN J, FANG Y, XU N, et al. Exploring the mechanism of triptolide inhibiting the motility of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis via RhoA/Rho-associated kinase axis, based on network pharmacology, molecular docking and molecular dynamics simulations[J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1545514.

- [18] 中华人民共和国国家药典委员会. **中华人民共和国药典: 一部**[M]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1290-1292.
Chinese Pharmacopoeia Commission. **Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I**[M]. 2020 ed. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020: 1290-1292. (in Chinese)
- [19] SHANG L, WANG Y, LI J, et al. Mechanism of Sijunzi decoction in the treatment of colorectal cancer based on network pharmacology and experimental validation [J]. **J Ethnopharmacol**, 2023, 302: 115876.
- [20] BAI Y, NIU L, SONG L, et al. Uncovering the effect and mechanism of Jiawei Xiaoyao Wan in treating breast cancer complicated with depression based on network pharmacology and experimental analysis[J]. **Phytomedicine**, 2024, 128: 155427.
- [21] SHI G, CHEN Z, FENG M, et al. Potential anti-gastric cancer properties of modified Lichong decoction based on metabolomics, network pharmacology, and pharmacological verification[J]. **J Ethnopharmacol**, 2025, 347: 119806.
- [22] FALLAHI P, FERRARI S M, GALDIERO M R, et al. Molecular targets of tyrosine kinase inhibitors in thyroid cancer[J]. **Semin Cancer Biol**, 2022, 79: 180-196.
- [23] DURANTE C, MONTESANO T, TORLONTANO M, et al. Papillary thyroid cancer: time course of recurrences during postsurgery surveillance[J]. **J Clin Endocrinol Metab**, 2013, 98(2): 636-642.
- [24] GRUBER J J, COLEVAS A D. Differentiated thyroid cancer: focus on emerging treatments for radioactive iodine-refractory patients[J]. **Oncologist**, 2015, 20(2): 113-126.
- [25] FILETTI S, DURANTE C, HARTL D, et al. Thyroid cancer: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up[J]. **Ann Oncol**, 2019, 30(12): 1856-1883.
- [26] LANDA I, IBRAHIMPASIC T, BOUCAI L, et al. Genomic and transcriptomic hallmarks of poorly differentiated and anaplastic thyroid cancers[J]. **J Clin Invest**, 2016, 126(3): 1052-1066.
- [27] NAGAI AH G, HOSSAIN A, MOONEY C J, et al. Anaplastic thyroid cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, and treatment[J]. **J Oncol**, 2011, 2011: 542358.
- [28] POZDEYEV N, GAY L M, SOKOL E S, et al. Genetic analysis of 779 advanced differentiated and anaplastic thyroid cancers[J]. **Clin Cancer Res**, 2018, 24(13): 3059-3068.
- [29] LIU Y, FANG C, LUO J, et al. Traditional Chinese medicine for cancer treatment[J]. **Am J Chin Med**, 2024, 52(3): 583-604.
- [30] TAN K Y, LIU C B, CHEN A H, et al. The role of traditional Chinese medicine in colorectal cancer treatment[J]. **Tech Coloproctology**, 2008, 12(1): 1-6.
- [31] WANG K, QIAN R, LI H, et al. Interpreting the pharmacological mechanisms of Sho-saiko-to on thyroid carcinoma through combining network pharmacology and experimental evaluation[J]. **ACS Omega**, 2022, 7(13): 11166-11176.
- [32] WANG F, ZHANG Q, LU Z, et al. Identification of chemical constituents in traditional Chinese medicine formula using HPLC coupled with linear ion trap-Orbitrap MS from high doses of medicinal materials to equivalent doses of formula: study on Xiang-Sha-Liu-Jun-Zi-Jia-Jian granules[J]. **J Sep Sci**, 2016, 39(9): 1619-1627.
- [33] VIVANCO I, SAWYERS C L. The phosphatidylinositol 3-kinase AKT pathway in human cancer[J]. **Nat Rev Cancer**, 2002, 2(7): 489-501.
- [34] CHEN H, ZHOU L, WU X, et al. The PI3K/AKT pathway in the pathogenesis of prostate cancer[J]. **Front Biosci (Landmark Ed)**, 2016, 21(5): 1084-1091.
- [35] XING M. Genetic alterations in the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt pathway in thyroid cancer[J]. **Thyroid**, 2010, 20(7): 697-706.
- [36] HOU P, LIU D, SHAN Y, et al. Genetic alterations and their relationship in the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in thyroid cancer[J]. **Clin Cancer Res**, 2007, 13(4): 1161-1170.
- [37] SHAO D, LIU X, WU J, et al. Identification of the active compounds and functional mechanisms of Jinshui Huanxian formula in pulmonary fibrosis by integrating serum pharmacochimistry with network pharmacology [J]. **Phytomedicine**, 2022, 102: 154177.
- [38] COOKSON B T, BRENNAN M A. Pro-inflammatory programmed cell death[J]. **Trends Microbiol**, 2001, 9(3): 113-114.
- [39] RAO Z, ZHU Y, YANG P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer[J]. **Theranostics**, 2022, 12(9): 4310-4329.
- [40] LIU Y, GUO Y, ZENG Q, et al. Prosapogenin A induces GSDME-dependent pyroptosis of anaplastic thyroid cancer through vacuolar ATPase activation-mediated lysosomal over-acidification[J]. **Cell Death Dis**, 2024, 15(8): 586.
- [41] HU Y, WEN Q, CAI Y, et al. Alantolactone induces concurrent apoptosis and GSDME-dependent pyroptosis of anaplastic thyroid cancer through ROS mitochondria-dependent caspase pathway[J]. **Phytomedicine**, 2023, 108: 154528.
- [42] KOVACS S B, MIAO E A. Gasdermins: effectors of pyroptosis[J]. **Trends Cell Biol**, 2017, 27(9): 673-684.
- [43] TANG R, XU J, ZHANG B, et al. Ferroptosis, necroptosis, and pyroptosis in anticancer immunity[J]. **J Hematol Oncol**, 2020, 13(1): 110.

[本文编辑 余方 刘丽娜]