

## 消癥丸调控 MEK/ERK 信号通路及细胞凋亡干预结节性甲状腺肿的作用机制

陈 琦<sup>1</sup>, 吴渝凡<sup>2</sup>, 赵小庆<sup>3</sup>, 张亚云<sup>3</sup>, 胡敏敏<sup>1\*</sup>

1. 南京中医药大学附属无锡医院, 江苏 无锡 214071

2. 江南大学无锡医学院, 江苏 无锡 214122

3. 雷允上药业集团有限公司, 江苏 苏州 215009

**摘要:** **目的** 探讨消癥丸对结节性甲状腺肿模型大鼠甲状腺组织结构、功能、细胞凋亡及丝裂原活化蛋白激酶 (MEK) / 细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 信号通路的影响。**方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、左甲状腺素钠组、消癥丸 (0.63、1.89 g/kg) 组。记录大鼠体重、甲状腺组织质量; 苏木精 - 伊红 (HE) 染色观察大鼠甲状腺组织的病理变化; 通过 ELISA 法检测大鼠血清促甲状腺激素 (TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸 (fT3)、游离甲状腺素 (fT4) 水平; TUNEL 染色观察大鼠甲状腺组织细胞凋亡的情况; Western blotting 及免疫组化法观察大鼠甲状腺组织凋亡相关蛋白 B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 以及 MEK/ERK 信号通路蛋白的表达情况。**结果** 与模型组相比, 消癥丸 (0.63、1.89 g/kg) 组甲状腺质量显著降低 ( $P < 0.001$ ); 消癥丸 1.89 g/kg 组甲状腺相对质量显著降低 ( $P < 0.001$ )。与模型组比较, 消癥丸 (0.63、1.89 g/kg) 组大鼠血清 TSH 水平显著降低, 血清中 fT3、fT4 水平显著升高 ( $P < 0.001$ )。消癥丸 1.89 g/kg 组大鼠甲状腺滤泡腔内胶质显著增加, 间质炎症细胞浸润情况得到了明显改善。与模型组相比, 消癥丸 1.89 g/kg 组 Bax、Bax/Bcl-2 蛋白表达显著增加, Bcl-2 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。与模型组相比, 消癥丸 0.63、1.89 g/kg 组 p-ERK/ERK 和 p-MEK/MEK 的蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。**结论** 消癥丸能够抑制 MEK/ERK 通路, 调节凋亡相关蛋白的表达, 促进甲状腺细胞凋亡, 从而发挥治疗结节性甲状腺肿的作用, 且安全性良好。

**关键词:** 消癥丸; 结节性甲状腺肿; 细胞凋亡; 细胞外调节蛋白激酶; 丝裂原活化蛋白激酶; 促甲状腺激素; 游离三碘甲状腺原氨酸; 游离甲状腺素; B 细胞淋巴瘤-2; Bcl-2 相关 X 蛋白

**中图分类号:** R286.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2026)08-2195-08

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.08.003

## Mechanism of Xiaozheng Pills in regulating MEK/ERK signaling pathway and apoptosis intervention in nodular goiter

CHEN Qi<sup>1</sup>, WU Yufan<sup>2</sup>, ZHAO Xiaoqing<sup>3</sup>, ZHANG Yayun<sup>3</sup>, HU Minmin<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, Wuxi Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Wuxi 214071, China

2. Wuxi School of Medicine, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

3. Leiyunshang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Suzhou 215009, China

**Abstract:** **Objective** To explore the effects of Xiaozheng Pills on thyroid tissue structure, function, cell apoptosis and MEK/ERK signaling pathway in a rat model of nodular goiter. **Methods** SD rats were randomly divided into the control group, the model group, the levothyroxine sodium group, and the Xiaozheng Pills (0.63 and 1.89 g/kg) groups. The body weight and thyroid tissue weight of the rats were recorded, HE staining was used to observe the pathological changes of the rat thyroid tissue, the levels of serum TSH, fT, and fT4 in the rat serum were detected by ELISA. TUNEL staining was used to observe the apoptosis of thyroid tissue cells in the rats; Western blotting and immunohistochemical methods were used to observe the expression of apoptosis-related proteins Bcl-2, Bax protein, and MEK/ERK signaling pathway proteins in the rat thyroid tissue. **Results** Compared with the model group, the thyroid mass in the Xiaozheng Pills (0.63 and 1.89 g/kg) groups was significantly reduced ( $P < 0.001$ ); the relative thyroid mass in the 1.89

收稿日期: 2026-05-29

基金项目: 国家自然科学基金-青年科学基金项目 C 类 (82500441); 江苏省自然科学基金项目 (BK20241628)

作者简介: 陈 琦, 女, 主管中药师, 博士, 研究方向为中药防治心血管疾病机制。E-mail: qichenjn@sina.com

\*通信作者: 胡敏敏, 女, 主任中药师, 硕士研究生导师, 硕士, 从事中药制剂制备与传承。E-mail: 47028239@qq.com

g/kg Xiaozheng Pills group was also significantly reduced ( $P < 0.001$ ). Compared with the model group, the serum TSH levels in the Xiaozheng Pills (0.63 and 1.89 g/kg) groups were significantly decreased, while the serum levels of fT3 and fT4 were significantly increased ( $P < 0.001$ ). In the Xiaozheng Pills 1.89 g/kg group, the amount of gel in the thyroid follicular cavities significantly increased, and the infiltration of inflammatory cells in the interstitial area was significantly improved. Compared with the model group, the Bax and Bcl-2 protein expressions in the Xiaozheng Pills 1.89 g/kg group significantly increased, while the Bcl-2 protein expression significantly decreased ( $P < 0.01, 0.001$ ). Compared with the model group, the protein expressions of p-ERK/ERK and p-MEK/MEK in the Xiaozheng Pills 0.63 and 1.89 g/kg groups were significantly decreased ( $P < 0.01, 0.001$ ). **Conclusion** Xiaozheng Pills can inhibit the MEK/ERK pathway, regulate the expression of apoptosis-related proteins, promote thyroid cell apoptosis, and thereby exert a therapeutic effect on nodular goiter, with good safety.

**Key words:** Xiaozheng Pills; nodular goiter; apoptosis; extracellular regulated protein kinase; mitogen-activated protein kinase; thyroid stimulating hormone; free triiodothyronine; free thyroxine; B-cell lymphoma-2; Bcl-2 associated X protein

结节性甲状腺肿又称腺瘤样甲状腺肿,其核心病理特征为甲状腺滤泡上皮细胞的弥漫性增生与代偿性肥大,最终形成结构不均一的多发性结节<sup>[1]</sup>。多数患者早期无明显症状,仅在体检时偶然发现。然而随着结节增大,可出现颈部增粗、局部压迫症状(呼吸困难、吞咽困难、声音嘶哑等)<sup>[2]</sup>。在成年人群中,体格检查可触及的甲状腺结节患病率为4%~8%,其中女性为5.3%~6.4%,男性为0.8%~1.5%。结节性甲状腺肿虽然多为良性病变,总体癌变率低于1%,但部分结节存在恶变可能,尤其是出现快速增大、质地坚硬、形态不规则等超声可疑征象时需高度警惕<sup>[3]</sup>。

目前结节性甲状腺肿的治疗手段主要包括定期随访、药物治疗(如左甲状腺素抑制治疗、抗甲亢药物)、放射性碘-131治疗、手术切除以及热消融等微创治疗<sup>[4-5]</sup>。然而,这些疗法均存在一定局限性。相比之下,中医从“气滞、血瘀、痰凝”等病机入手,治疗结节性甲状腺肿具有独特优势<sup>[6]</sup>。消癥丸共由11味中药组成,包括柴胡、香附、大黄(酒炙)、青皮、川芎、莪术、土鳖虫、浙贝母、当归、白芍、王不留行。消癥丸具有疏肝行气、活血化痰、软坚散结的功效。丝裂原活化蛋白激酶(MEK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路在结节性甲状腺肿的发生中发挥重要调控作用,是连接甲状腺功能异常与组织增生的重要分子桥梁。该通路作为丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)家族的核心成员,在生理状态下介导生长因子、激素等胞外信号向核内的传递,调控细胞周期进展和基因表达。在结节性甲状腺肿中,促甲状腺激素持续升高可通过激活 Ras-Raf-MEK-ERK 级联反应,促进滤泡上皮细胞过度增殖,最终形成结节。已有研究证实,丙基硫氧嘧啶(PTU)诱导的甲状腺肿大鼠甲状腺组织中

ERK1/2 磷酸化水平显著升高,而阻断 MAPK 通路可有效抑制甲状腺肿的形成<sup>[7]</sup>。基于此,本研究拟观察消癥丸对结节性甲状腺肿模型大鼠的治疗效果及作用机制,为中药防治结节性甲状腺肿提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

选取 SPF 级 8 周龄雄性 SD 大鼠 50 只,体质量为 220~250 g,购于斯贝福(苏州)生物技术有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(苏)2022-0006,动物合格证号 A202506130082。动物饲养于江南大学 SPF 级动物房,室温 18~26 °C,湿度 40%~70%,光照 12 h 明暗交替,大鼠可自由饮水、饮食。本研究已得到江南大学伦理委员会批准,所有实验操作均符合动物伦理委员会要求,伦理批号 JN.20250331S0500801[170]。

### 1.2 试剂与药物

消癥丸(苏州雷允上有限公司,规格 10 丸/袋,批号 MB38001);PTU(上海朝晖药业有限公司,批号 2411N04);左甲状腺素钠片[默克制药(江苏)有限公司,批号 010019667];促甲状腺激素(TSH)、游离三碘甲状腺原氨酸(fT3)、游离甲状腺素(fT4)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 20250929、20250929、20250929);Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)抗体、B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)抗体(Proteintech 武汉三鹰生物技术有限公司,批号 00184181、00168658);p-ERK 抗体(美国 Med ChemExpress 有限公司,批号 264088);p-MEK 抗体(美国 Med ChemExpress 有限公司,批号 940811);ERK 抗体(美国 Med ChemExpress 有限公司,批号 564227);MEK 抗体(美国 Med Chem Express 有限公司,批号 987103)。

### 1.3 主要仪器

BSA2245-CW 分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];纯水仪(Milli-Q Direct);ELX800 酶标仪(BioTek 仪器公司);85-2 型磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司);Centrifuge 5417R 台式微量冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);RM2016 组织切片机(上海徕卡仪器有限公司);JB-P5 包埋仪(武汉俊杰电子有限公司);WA02A12E 恒温水浴锅(美国 PolyScience 公司);JSZ6D 光学显微镜(江南永新光学有限公司);5200 Multi 全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司)。

### 1.4 分组及给药

根据参考文献报道<sup>[8-10]</sup>,采用 ig 0.1% PTU 溶液,1 次/d,连续 8 周的方式来复制甲状腺结节大鼠模型。消癥丸的人临床推荐剂量,按单位体质量的剂量换算大鼠的等效剂量相当于人的 6.3 倍,即 0.63 g/kg。本研究所用的低剂量组为 0.63 g/kg(等效于临床剂量),高剂量组为 1.89 g/kg(等效于临床 3 倍剂量)。

将 50 只 SD 大鼠适应性喂养 1 周后称重,随机分为 5 组,每组 10 只,分别为对照组、模型组、左甲状腺素钠组、消癥丸(0.63、1.89 g/kg)组。除对照组外,其余各组每天按 10 mL/kg 给药体积 ig 0.1% PTU 溶液造结节性甲状腺肿大鼠模型,对照组 ig 等体积的生理盐水,持续 8 周。从第 9 周开始对照组、模型组 ig 给予等体积的生理盐水,左甲状腺素钠组给予左甲状腺素钠 10  $\mu$ g/kg,消癥丸(0.63、1.89 g/kg)组分别 ig 给予相应剂量的药物,连续 4 周,1 次/d。在给药第 28 天晚上 21:00 时对大鼠禁食不禁水 12 h,于第 2 天上午 9:00 时进行心脏取血,用于检测 TSH、fT3、fT4 水平。取血完毕后脱颈椎处死,解剖取大鼠两侧甲状腺组织,置于 10%的福尔马林固定液固定,用于后续病理组织学的观察。

### 1.5 甲状腺质量检测

大鼠取血后固定于鼠台上切开颈部皮肤,逐层分离,完全暴露气管,于气管两侧可见红色椭圆形组织即为甲状腺,完整分离后除去周围组织,冷生理盐水冲洗,滤纸吸干,用天平称取甲状腺质量并计算甲状腺相对质量(甲状腺湿质量/动物体质量)。

### 1.6 TSH、fT3、fT4 水平检测

连续 ig 给药 4 周后,心脏取血,并收集血清。酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 TSH、fT3、

fT4 水平,严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行检测。

### 1.7 甲状腺组织病理学检测

取每只大鼠一侧的甲状腺,置于 10%的福尔马林固定液固定。之后对组织进行洗涤与脱水、透明和浸蜡后进行包埋。切片、展片、捞片和烤片对切片进行脱蜡及水化,使用苏木素和伊红染色后中性树胶封片。粘贴标签后,使用显微镜观察、拍照。

### 1.8 甲状腺组织细胞凋亡检测

将组织切片脱蜡后依次按照 TUNEL 试剂盒方法进行 TUNEL 染色。粘贴标签后,使用显微镜观察、拍照。

### 1.9 甲状腺组织凋亡蛋白表达的检测

从甲状腺组织中提取总蛋白,BCA 试剂盒测总蛋白浓度。10% SDS-PAGE 电泳分离后,将等量蛋白质转移到 PVDF 膜。用 5% BSA 封闭后,分别加入甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、Bax、Bcl-2 抗体反应过夜。TBST 洗涤后,在室温下加入相应的山羊抗兔 IgG 二抗 60 min。TBST 洗涤后,曝光。

### 1.10 MEK/ERK 信号通路相关蛋白检测

通过 Western blotting 检测 MEK/ERK 信号通路中 p-ERK、ERK、p-MEK、MEK 蛋白表达,步骤同 1.9 项下。p-ERK 的表达量与其对应的 ERK 为内参进行归一化(即 p-ERK/ERK),再比较各组间的相对表达差异;p-MEK 同样以对应的 MEK 进行归一化(即 p-MEK/MEK),再进行组间比较。

### 1.11 统计学分析

计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间数据结果采用 Graph Pad Prism 8.1 软件进行单因素方差分析并作图,两组间采用 *t* 检验比较分析。

## 2 结果

### 2.1 消癥丸对结节性甲状腺肿大鼠体质量的影响

如图 1 所示,对照组小鼠体质量在实验周期的 12 周内稳步上升。与对照组相比,其余各组大鼠的体质量在造模期间没有增加,且维持稳定。从治疗第 8 周开始,模型组及各给药组的大鼠体质量开始稳步上升。在实验终点,模型组和各给药组之间的大鼠体质量无明显差异,但明显低于对照组( $P < 0.001$ ),说明给药治疗无法使结节性甲状腺肿大鼠的体质量恢复至正常水平。与模型组相比,各给药组也无升高结节性甲状腺肿大鼠体质量的作用。

### 2.2 消癥丸对结节性甲状腺肿大鼠模型甲状腺质量及相对质量的影响

如图 2 所示,与模型组相比,消癥丸(0.63、

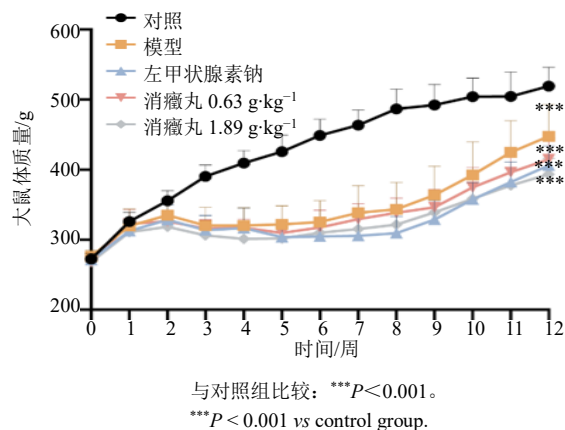


图 1 消癥丸对大鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )  
Fig. 1 Effect of Xiaozheng Pills on body weight of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

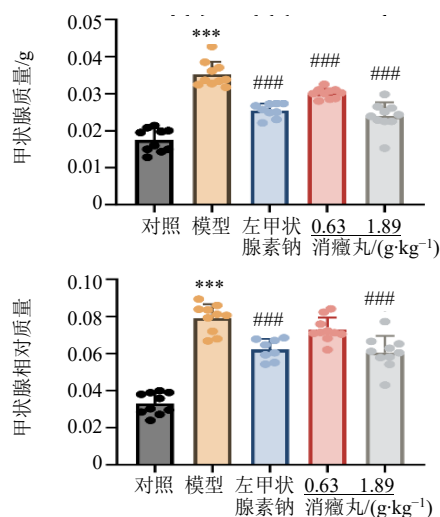


图 2 消癥丸对大鼠甲状腺质量和相对质量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )  
Fig. 2 Effects of Xiaozheng Pills on thyroid mass and relative mass of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Fig. 2 Effects of Xiaozheng Pills on thyroid mass and relative mass of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

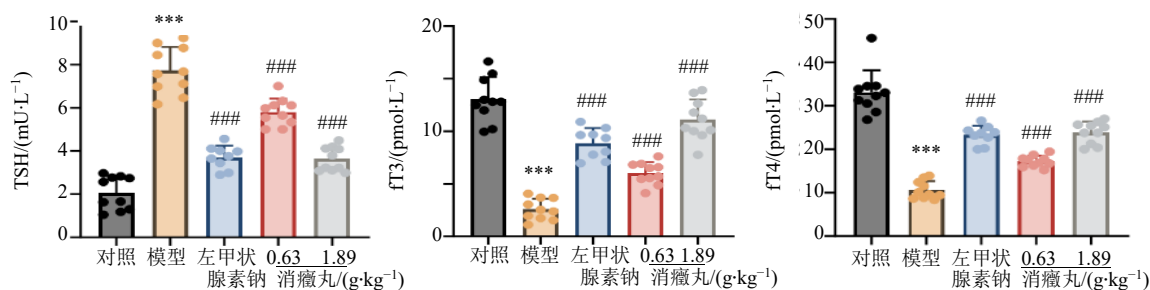


图 3 消癥丸对大鼠血清中 TSH、fT3、fT4 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Fig. 3 Effect of Xiaozheng Pills on serum TSH, fT3, and fT4 levels of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

1.89 g/kg) 组甲状腺质量显著降低 ( $P < 0.001$ )。与模型组相比, 消癥丸 1.89 g/kg 组甲状腺相对质量显著降低 ( $P < 0.001$ )。

### 2.3 消癥丸对结节性甲状腺肿大模型大鼠甲状腺功能的影响

如图 3 所示, 与模型组比较, 消癥丸 (0.63、1.89 g/kg) 组大鼠血清 TSH 水平显著降低, 血清中 fT3、fT4 水平显著升高 ( $P < 0.001$ )。

### 2.4 消癥丸对结节性甲状腺肿大模型大鼠甲状腺组织病理形态的影响

如图 4 所示, 对照组大鼠的甲状腺组织滤泡大小均一, 形态多呈规则的球形或卵圆形, 排列规则、整齐, 组织结构有序, 无紊乱现象。滤泡腔内充满均质、嗜酸性的胶质。滤泡由单层立方上皮细胞环绕构成, 细胞形态一致, 核圆、居中, 无明显异型性或增生表现。间质中无炎症细胞浸润, 说明无炎症或免疫反应发生。模型组大鼠甲状腺组织的滤泡形态变得极不规则。滤泡不再呈均一的球形或卵圆形, 出现萎缩和扩张并存的现象, 导致大、小滤泡差异显著, 组织结构紊乱。部分区域滤泡排列稀疏, 失去正常的紧密排列结构。有些滤泡的上皮细胞高度肿胀, 甚至出现了乳头状增生。腔内的淡粉色胶质减少, 间质存在大量炎症细胞浸润, 被膜纤维组织增生明显。左甲状腺素钠组和消癥丸组大鼠甲状腺组织滤泡排列整齐, 且呈现球形或卵圆形, 周围少量增生。消癥丸 1.89 g/kg 组大鼠甲状腺滤泡腔内胶质显著增加, 间质间炎症细胞浸润情况得到了明显改善。

### 2.5 消癥丸对结节性甲状腺肿大模型大鼠甲状腺组织细胞凋亡的影响

通过 TUNEL 染色 (DAB 显色法) 观察消癥丸

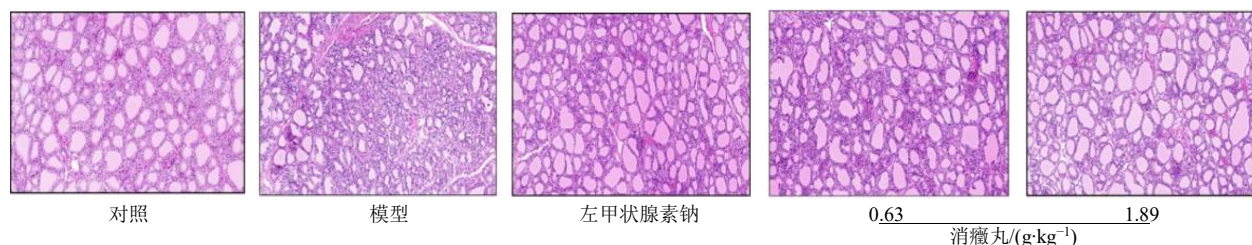


图 4 消癥丸对大鼠甲状腺组织病理学变化的影响 (HE 染色, ×20)

Fig. 4 Effect of Xiaozheng Pills on histopathological changes in thyroid tissue of rats (HE staining, ×20)

对大鼠甲状腺组织中滤泡上皮细胞凋亡的影响。结节性甲状腺肿中的滤泡上皮细胞表现为良性代偿性增生细胞。在凋亡过程中, DNA 会断裂, 用辣根过氧化物酶标记后, 与底物 DAB 反应, 产生不溶性的棕褐色沉淀。如图 5 所示, 模型组大鼠甲状腺组织中滤泡上皮细胞凋亡细胞数量显著减少, 细胞排列紊乱, 滤泡结构破坏。左甲状腺素钠组和消癥丸组中呈现为棕褐色的滤泡上皮细胞凋亡数量有所增加。TUNEL 结果表明消癥丸可以增加结节性甲状腺肿模型大鼠甲状腺滤泡上皮细胞凋亡。

借助于 Western blotting 和免疫组化技术观察大鼠甲状腺中凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 的表达。如图 6 所示, 与模型组相比, 消癥丸 1.89 g/kg 组 Bax、Bax/Bcl-2 蛋白表达显著增加, Bcl-2 蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ), 免疫组化实验也得到了一致的结果。如图 7 所示, Bax 阳性染色呈棕黄色颗粒状, 主要定位于甲状腺滤泡上皮细胞胞质。对照

组甲状腺组织中可见明确的 Bax 阳性染色区域, 着色清晰可辨。模型组的 Bax 阳性染色几乎不可见, 而消癥丸组 Bax 阳性染色明显增强, 阳性细胞数量增多, 着色加深。Bcl-2 阳性染色同样定位于滤泡上皮细胞胞质, 但在模型组中呈强阳性表达, 阳性细胞密集, 染色深染; 经消癥丸干预后, Bcl-2 阳性染色强度明显减弱, 阳性细胞数量减少, 染色变浅。

## 2.6 消癥丸对结节性甲状腺肿大鼠模型甲状腺组织中 MEK/ERK 信号通路的影响

如图 8 所示, Western blotting 表明, 与模型组相比, 消癥丸 0.63、1.89 g/kg 组 p-ERK/ERK 和 p-MEK/MEK 的蛋白表达显著降低 ( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。免疫组化实验也揭示了同样的结果。如图 9 所示, p-ERK、ERK、p-MEK、MEK 阳性染色均呈棕黄色颗粒, 主要定位于甲状腺滤泡上皮细胞的胞质中。对照组中 p-ERK、p-MEK 呈微弱阳性表达; 模型组阳性染色显著增强, 阳性细胞密集, 着色加深; 经

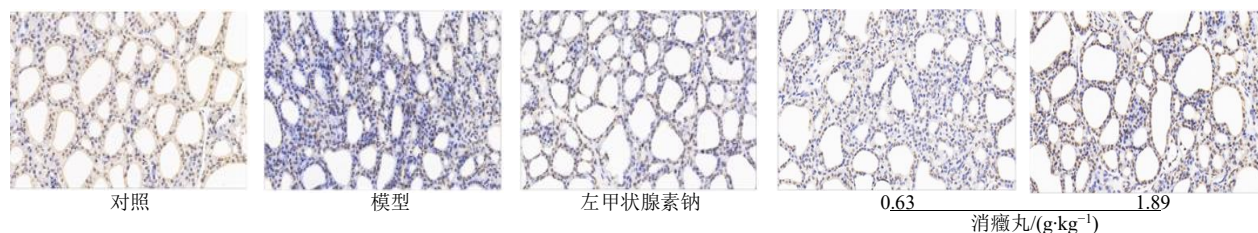
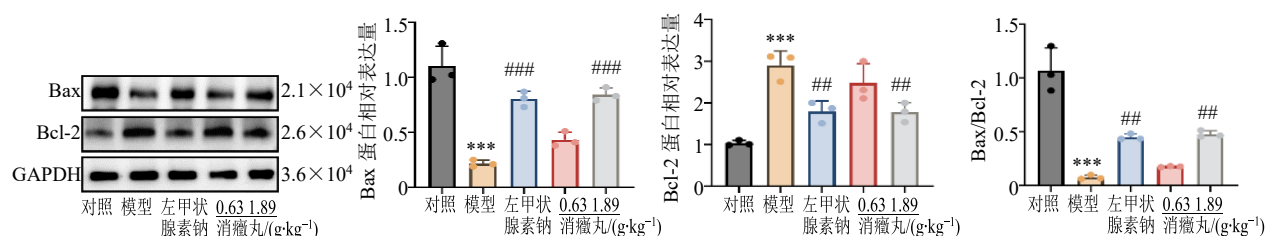


图 5 消癥丸对大鼠甲状腺组织凋亡的影响 (TUNEL 染色, ×40)

Fig. 5 Effect of Xiaozheng Pills on thyroid tissue apoptosis of rats (TUNEL staining, ×40)



与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$  ### $P < 0.001$ 。

\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ## $P < 0.01$  ### $P < 0.001$  vs model group.

图 6 消癥丸对大鼠甲状腺组织凋亡蛋白 Bax 和 Bcl-2 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )Fig. 6 Effect of Xiaozheng Pills on the expression of apoptosis proteins Bax and Bcl-2 in thyroid tissue of rat ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

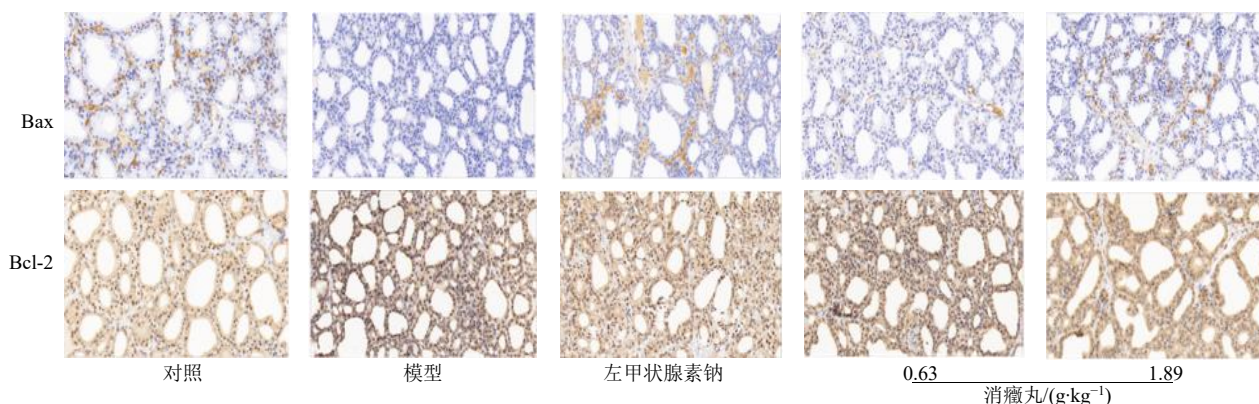
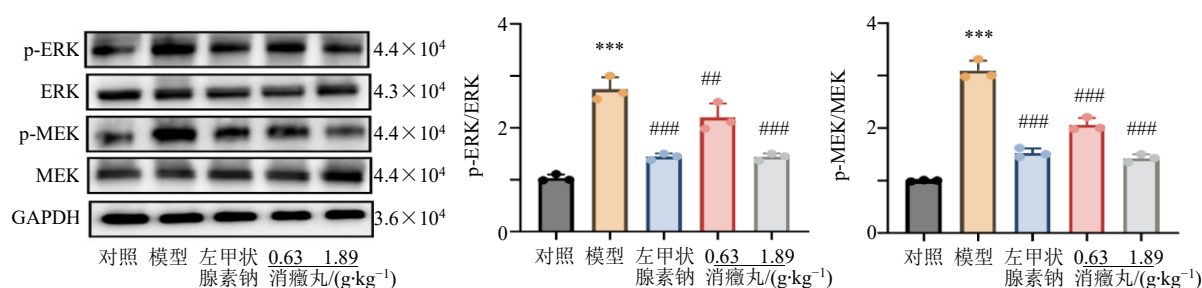


图 7 消癥丸对大鼠甲状腺组织凋亡蛋白 Bax、Bcl-2 表达的影响 (免疫组化,  $\times 40$ )

Fig. 7 Effect of Xiaozheng Pills on the expression of apoptosis protein Bax and Bcl-2 in thyroid tissue of rats (immunohistochemistry,  $\times 40$ )



与对照组比较: \*\*\* $P < 0.001$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$  ### $P < 0.001$ 。

\*\*\* $P < 0.001$  vs control group; ## $P < 0.01$  ### $P < 0.001$  vs model group.

图 8 消癥丸对大鼠甲状腺组织 MEK/ERK 信号通路蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

Fig. 8 Effect of Xiaozheng Pills on MEK/ERK signaling pathway protein expression in thyroid tissue of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 3$ )

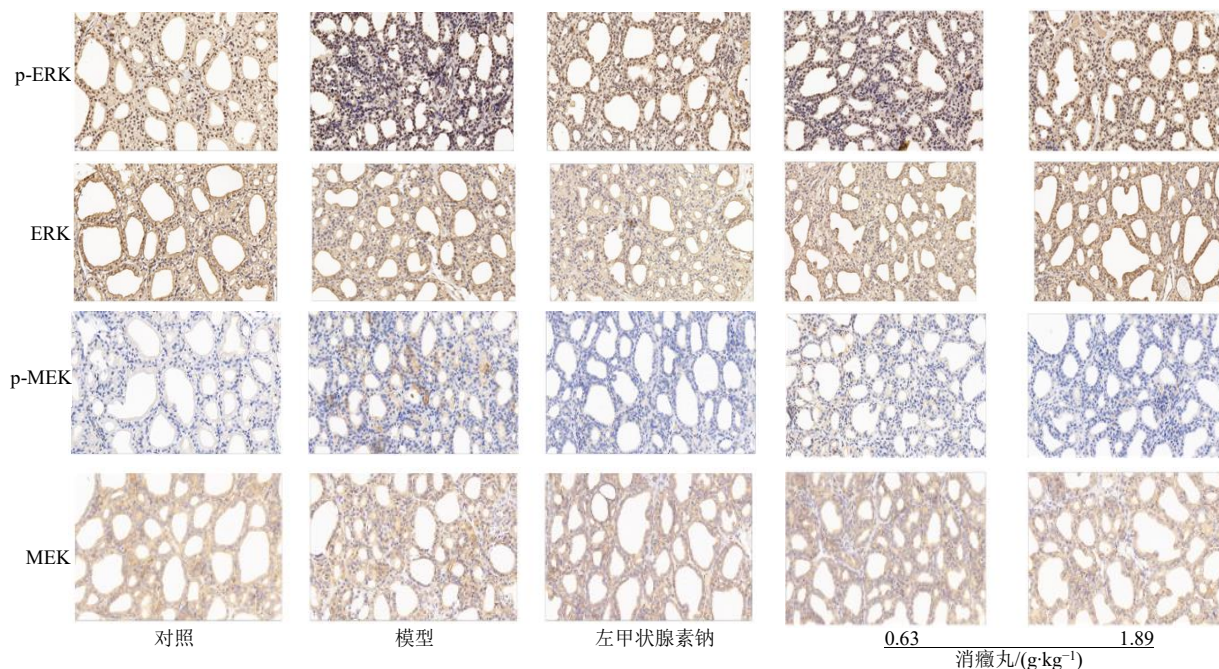


图 9 消癥丸对大鼠甲状腺组织 p-ERK、ERK、p-MEK、MEK 表达的影响 (免疫组化,  $\times 40$ )

Fig. 9 Effect of Xiaozheng Pills on p-ERK, ERK, p-MEK, and MEK expression in thyroid tissue of rats (immunohistochemistry,  $\times 40$ )

消癥丸干预后,组染色强度均不同程度减弱。ERK、MEK 总蛋白在各组中均呈阳性表达,组间染色强度未见明显差异。

### 3 讨论

在中医学中,虽无“结节性甲状腺肿”之病名,但根据患者颈前结块肿大、随吞咽上下移动的临床表现,可将其归属于“瘰病”“瘰瘤”“肉瘰”等范畴<sup>[11-12]</sup>。气滞、痰凝、血瘀壅结颈前为本病的基本病机,三者常互为因果,贯穿疾病始终<sup>[13]</sup>。消癥丸的核心功效是舒肝行气、活血化瘀、软坚散结<sup>[14-15]</sup>。方中的柴胡、香附以及青皮具有疏理肝气,调畅气机的功效,此为消除瘰肿的首要环节。川芎、莪术、土鳖虫、酒大黄等破血逐瘀之品,起到活血化瘀以消癥块的功效。另外,浙贝母能够清热化痰、软坚散结,是消散颈部痰核瘰瘤的要药。配伍当归、白芍养血柔肝,使行气活血而不伤正。尽管消癥丸目前主要用于治疗乳腺相关疾病,但其“舒肝行气、活血化瘀、软坚散结”的功效,与结节性甲状腺肿气滞、痰凝、血瘀的核心病机高度一致。本研究也证实了消癥丸的治疗能够显著降低结节性甲状腺肿大鼠的甲状腺质量和相对质量,改善甲状腺的功能及病理情况。这一研究结果也体现了中医“异病同治”的治疗特色。

在结节性甲状腺肿大鼠模型中,大鼠体质量下降的核心原因是甲状腺功能紊乱导致的代谢失衡。造模药物(如 PTU)会抑制甲状腺激素合成,引发机体反馈性地大量分泌促甲状腺激素以刺激甲状腺增生肿大,此过程常伴随甲状腺激素水平的剧烈波动,可能造成一过性代谢率异常增高,能量消耗巨大。同时,药物不良反应及全身不适会导致食欲减退和消化吸收功能障碍,造成营养摄入与利用不足。在“高消耗”与“低摄入”的双重作用下,机体能量负平衡,最终导致体质量下降。

为进一步揭示消癥丸治疗结节性甲状腺肿的作用靶点,本研究从细胞凋亡调控与 MEK/ERK 信号通路两个层面进行了机制探讨。首先,在细胞凋亡调控方面,本研究发现消癥丸能显著升高甲状腺组织中促凋亡蛋白 Bax 的表达,同时降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,使 Bax/Bcl-2 值明显升高( $P < 0.01$ 、 $0.001$ ),与 TUNEL 染色所见的凋亡细胞增多相一致。Bcl-2 家族蛋白是线粒体凋亡途径的核心调控因子,Bax/Bcl-2 值决定着细胞凋亡的“开关”:比值升高时,Bax 在线粒体外膜上形成寡聚体通道,

促进细胞色素 C 释放,进而激活 Caspase 级联反应,启动不可逆的凋亡程序<sup>[16]</sup>。在甲状腺结节的发生发展中,细胞增殖与凋亡之间平衡打破,结节性甲状腺肿组织中常表现为凋亡不足、细胞过度堆积<sup>[17]</sup>。本研究结果提示,消癥丸能够上调 Bax/Bcl-2 比值,恢复凋亡信号的正常传导,从而促进结节细胞的程序性死亡,这可能是其缩小甲状腺肿大的关键细胞学基础。值得注意的是,既往研究亦证实,具有化痰散结功效的中药复方可通过调节 Bax/Bcl-2 平衡促进甲状腺滤泡细胞凋亡<sup>[18]</sup>,与本研究的发现相互印证。

通过对 MEK/ERK 信号通路的检测,本研究发现消癥丸可显著抑制结节性甲状腺肿大鼠甲状腺组织中 p-MEK 和 p-ERK 的蛋白表达水平( $P < 0.01$ 、 $0.001$ )。MAPK/ERK 通路是调控细胞增殖、分化与凋亡的核心信号枢纽,其编码基因(如 RET、RAS、BRAF 等)在甲状腺疾病中常发生突变或异常表达,导致该通路的组成性激活<sup>[19]</sup>。在正常甲状腺细胞中,MAPK 信号的时相与强度受到精细调控,如 TSH/cAMP 信号可通过上调 DARPP-32 蛋白维持 MAPK 通路的持续性激活,从而驱动细胞分化;而当该调控机制失衡时,MAPK 的异常持续激活则驱动细胞过度增殖,参与结节形成乃至恶性转化<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,消癥丸能够有效阻断 MEK 及 ERK 的磷酸化级联,提示其可能通过干扰该通路的上游活化信号,从而间接抑制 Bcl-2 等抗凋亡因子的转录,为 Bax/Bcl-2 比值的上调提供了上游信号层面的解释。

综上所述,消癥丸能够抑制 MEK/ERK 信号通路的异常磷酸化,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达,上调促凋亡蛋白 Bax 的表达,提高 Bax/Bcl-2 比值,从而促进结节性甲状腺肿大鼠甲状腺细胞的凋亡,改善甲状腺组织的病理结构和功能,本研究为消癥丸治疗结节性甲状腺肿提供了实验药理学依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Chaker L, Cooper D S, Walsh J P, et al. Hyperthyroidism [J]. *Lancet*, 2024, 403(10428): 768-780.
- [2] Alexander E K, Doherty G M, Barletta J A. Management of thyroid nodules [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2022, 10(7): 540-548.
- [3] Baloch Z W, Asa S L, Barletta J A, et al. Overview of the

- 2022 WHO classification of thyroid neoplasms [J]. *Endocr Pathol*, 2022, 33(1): 27-63.
- [4] Carsote M, Ciobica M L, Sima O C, *et al.* Personalized management of malignant and non-malignant ectopic mediastinal thyroid: A proposed 10-item algorithm approach [J]. *Cancers*, 2024, 16(10): 1868.
- [5] 徐庆玲, 于守君, 张永林, 等. 微波消融治疗结节性甲状腺肿对甲状腺功能影响的临床观察 [J]. 介入放射学杂志, 2017, 26(6): 535-538.
- [6] 祁婉莹, 于蓓蓓, 杜海涛, 等. 中药治疗结节性甲状腺肿作用机制的研究进展 [J]. 中成药, 2024, 46(4): 1229-1236.
- [7] Wang N, Li Y Q, Wei J, *et al.* TBX1 Functions as a tumor suppressor in thyroid cancer through inhibiting the activities of the PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways [J]. *Thyroid*, 2019, 29(3): 378-394.
- [8] 王常麟, 高冬梅, 高明周, 等. 甲状腺结节肝气郁证大鼠模型的制备与评价研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2024, 26(8): 2106-2114.
- [9] 曾明星. 活血消癥方治疗结节性甲状腺肿的临床经验及调控 PI3K/Akt 信号通路的机制研究 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2017.
- [10] 邝计霞, 李晋生, 岳枫, 等. 醒消丸对结节性甲状腺肿模型大鼠甲状腺细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 中医药导报, 2024, 30(9): 6-10.
- [11] 陈怡鑫, 刘海鹏, 范源. 古今中医对甲状腺结节的认识和治疗演变 [J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(12): 18-24.
- [12] 俞佳炜, 裴迅, 许惠越. 中医药治疗结节性甲状腺肿机制研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2023, 19(9): 243-247.
- [13] 字秋月, 丁永丽, 邓杨林, 等. 中医药治疗结节性甲状腺肿研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(5): 866-870.
- [14] 余红, 樊英怡, 刘宇飞, 等. 消癥丸治疗气滞血瘀痰凝型乳腺增生病的临床研究 [J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(8): 136-139.
- [15] 王李俊, 李雄英, 万军, 等. 消癥丸对四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化治疗作用 [J]. 中草药, 2024, 55(21): 7359-7364.
- [16] Flores-Romero H, Hohorst L, John M, *et al.* BCL-2-family protein tBID can act as a BAX-like effector of apoptosis [J]. *EMBO J*, 2022, 41(2): e108690.
- [17] Mei D, Lv B, Chen B, *et al.* All-trans retinoic acid suppresses malignant characteristics of CD133-positive thyroid cancer stem cells and induces apoptosis [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182835.
- [18] 卢江昆, 叶仁静, 沈洁, 等. 消癥方对甲状腺 FRTL 细胞增殖与凋亡的影响 [J]. 青岛大学学报: 医学版, 2021, 57(1): 105-109.
- [19] Yue J C, López J M. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2346.
- [20] Chocarro-Calvo A, Zaballos M A, Santisteban P, *et al.* DARPP-32 is required for MAPK/ERK signaling in thyroid cells [J]. *Mol Endocrinol*, 2012, 26(3): 471-480.

【责任编辑 高源】