

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002524

维生素 D₃ 对实验性自身免疫性甲状腺炎 Th1/Th2 细胞平衡和 MCP-1/CCR2 信号的影响

侯丽萍, 耿建林, 谷巍, 刘晴晴

(河北省衡水市哈励逊国际和平医院内分泌科, 衡水 053000)

【摘要】目的:探讨维生素 D₃ 对实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠炎症、辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2(helper T cell 1/helper T cell 2, Th1/Th2) 及单核细胞趋化蛋白 1/细胞表面趋化因子受体 2(monocyte chemoattractant protein-1/cell surface chemokine receptor 2, MCP-1/CCR2) 信号的影响。**方法:**将 Lewis 大鼠按随机数字表法分为对照组($n=10$)、模型组($n=15$)和治疗组($n=15$), 采用免疫猪甲状腺球蛋白(porcine thyroglobulin, pTG)诱导建立实验性自身免疫性甲状腺炎(experimental autoimmune thyroiditis, EAT)大鼠模型, 治疗组按照每只 5 mg/kg 的剂量腹腔注射 1, 25-二羟维生素 D₃[1, 25-(OH)₂D₃], 隔天 1 次, 共用 4 周, 其余 2 组均给予等体积生理盐水。采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin stain, HE)染色观察大鼠甲状腺组织形态学变化; 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、自身抗体抗甲状腺球蛋白抗体(anti-thyroglobulin antibody, TGAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(anti-thyroid peroxidase antibody, TPOAb)及细胞因子干扰素- γ (interferon, IFN- γ)、白细胞介素-12(interleukin-12, IL-12)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10), 逐步线性回归分析 TSH 与自身抗体、细胞因子的关系; 免疫组织化学检测甲状腺组织中的 NF- κ B p65; Western blot 检测甲状腺组织中 MCP-1/CCR2 信号轴。**结果:**模型组甲状腺滤泡结构破坏、炎性细胞浸润, 治疗组甲状腺病理变化明显改善并趋向于对照组。治疗组 TSH、TGAb、TPOAb 水平与模型组相比均明显降低($t=4.000, 2.603, 5.279, P=0.000, 0.015, 0.000$), 但仍明显高于对照组($t=2.400, 2.216, 7.392, P=0.025, 0.037, 0.000$)。与模型组相比, 治疗组 IL-4、IL-10 水平明显升高($t=3.522, 2.432, P=0.001, 0.022$), IFN- γ 、IL-12 水平及 IFN- γ /IL-4、IL-12/IL-10 比值明显降低($t=2.940, 4.700, 5.416, 8.178, P=0.007, 0.000, 0.000, 0.000$), 均趋向于对照组水平。逐步回归分析结果显示, TSH 与 TGAb、TPOAb、IFN- γ 、IL-12 均呈正相关, 与 IL-4 和 IL-10 呈负相关($r=0.872, 0.868, 0.731, 0.706, -0.557, -0.236$, 均 $P<0.001$), 其中 TGAb、TPOAb 和 IL-12 对 TSH 的影响最明显。与模型组比较, 治疗组大鼠甲状腺组织中的 NF- κ B p65、MCP-1 及 CCR2 水平均下降, 差异具有统计学意义($t=2.432, 2.267, 5.143, P=0.000, 0.031, 0.000$)。**结论:**维生素 D₃ 可能是通过抑制 NF- κ B 通路以下调 Th1 型细胞因子、上调 Th2 型细胞因子进而降低 Th1/Th2 比值, 还可能通过抑制 MCP-1/CCR2 信号轴, 最终减轻 EAT 大鼠甲状腺炎, 改善甲状腺功能, 抑制甲状腺抗体生成, 保护甲状腺。

【关键词】维生素 D₃; 实验性自身免疫性甲状腺炎; 辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2; 单核细胞趋化蛋白 1/细胞表面趋化因子受体 2

【中图分类号】R593.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2020-01-09

Effects of vitamin D₃ on helper T cell 1/helper T cell 2 cell balance and monocyte chemoattractant protein-1/cell surface chemokine receptor 2 signal in experimental autoimmune thyroiditis

Hou Liping, Geng Jianlin, Gu Wei, Liu Qingqing

(Department of Endocrinology, Hallison International Peace Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of vitamin D₃ on inflammation, helper T cell 1/helper T cell 2(Th1/Th2) and monocyte chemoattractant protein-1/cell surface chemokine receptor 2(MCP-1/CCR2) signal in experimental autoimmune thyroiditis(EAT) rats. **Methods:** Lewis rats were randomly divided into the control group($n=10$), the model group($n=15$) and the treatment group($n=15$).

作者介绍: 侯丽萍, Email: zx7dq3@163.com,

研究方向: 内分泌代谢。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200610.1652.016.html>

(2020-06-11)

The rat model of EAT was established by immunizing porcine thyroglobulin(pTG). The treatment group received intraperitoneal injection of 1, 25-(OH)₂ vitamin D₃ at the dose of 5 mg/kg, once every other day for consecutive four weeks, and the other two

groups were given normal saline of equal volume. The morphological changes of thyroid tissue in rats were observed by hematoxylin-eosin(HE) staining. Serum thyroid stimulating hormone(TSH), anti-thyroglobulin antibody(TGAb), anti-thyroid peroxidase antibody(TPOAb) and cytokines interferon- γ (IFN- γ), interleukin-12(IL-12), interleukin-4(IL-4) and interleukin-10(IL-10) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). The relationship between TSH and autoantibodies and cytokines was analyzed by stepwise linear regression. NF- κ B p65 in thyroid tissue was detected by immunohistochemistry. MCP-1/CCR2 signal axis in thyroid tissue was analyzed by Western blot. **Results:** In the model group, thyroid follicles were damaged and inflammatory cells were infiltrated, while the pathological changes of thyroid in the treatment group were significantly improved and tended to the control group. The levels of TSH, TGAb and TPOAb in the treatment group were significantly lower than those in the model group ($t=4.000, 2.603, 5.279; P=0.000, 0.015, 0.000$), but were still significantly higher than those in the control group ($t=2.400, 2.216, 7.392; P=0.025, 0.037, 0.000$). Compared with the model group, the levels of IL-4 and IL-10 were significantly increased in the treatment group ($t=3.522, 2.432; P=0.001, 0.022$), and the levels of IFN- γ , IL-12 and IFN- γ /IL-4 and IL-12/IL-10 were significantly decreased in the treatment group ($t=2.940, 4.700, 5.416, 8.178; P=0.007, 0.000, 0.000, 0.000$), which tended to the levels of the control group. Stepwise regression analysis showed that TSH was positively correlated with TGAb, TPOAb, IFN- γ and IL-12, and negatively correlated with IL-4 and IL-10 ($r=0.872, 0.868, 0.731, 0.706, -0.557, -0.236$, all $P<0.001$), among which TGAb, TPOAb and IL-12 had the most significant effect on TSH. Compared with the model group, the levels of NF- κ B p65, MCP-1 and CCR2 in the thyroid tissues of rats in the treatment group were decreased, with statistically significant differences ($t=2.432, 2.267, 5.143; P=0.000, 0.031, 0.000$). **Conclusion:** Vitamin D₃ may inhibit NF- κ B pathway to down-regulate Th1 cytokines and up-regulate Th2 cytokines, thereby reducing Th1/Th2 ratio. Or, it reduces thyroiditis in EAT rats, improves thyroid function, inhibits thyroid antibody production and protects thyroid by inhibiting MCP-1/CCR2 signaling axis.

[Key words] vitamin D₃; experimental autoimmune thyroiditis; helper T cell 1/helper T cell 2; monocyte chemoattractant protein-1/cell surface chemokine receptor 2

自身免疫性甲状腺炎(autoimmune thyroiditis, AIT)是临床上常见的器官特异性自身免疫性疾病, 又称桥本甲状腺炎(hashimoto thyroiditis, HT)^[1]。目前临床上广泛采用的免疫抑制剂、糖皮质激素等药物在有效减轻症状的同时也严重损伤了机体的免疫能力, 而硒制剂可通过促进细胞凋亡、抑制自身免疫以辅助 HT 自身免疫反应的缓解^[2]。大量研究表明, 维生素 D 对实验性自身免疫性脑脊髓炎、1 型糖尿病及炎症性肠病等多种自身免疫性疾病的自身免疫反应过程具有抑制作用^[3]。近年来, 维生素 D 被报道能使甲状腺自身抗体降低, 甲状腺自身免疫反应受到抑制, 因而能对 HT 发挥一定疗效^[4], 然而尚不完全清楚其作用机制。因此, 本研究通过建立与 HT 具有相同病理特征的实验性自身免疫性甲状腺炎(experimental autoimmune thyroiditis, EAT)大鼠模型^[5], 探讨维生素 D₃ 对 EAT 大鼠甲状腺功能、辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2(helper T cell 1/helper T cell 2, Th1/Th2)平衡及单核细胞趋化蛋白 1/细胞表面趋化因子受体 2(monocyte chemoattractant protein-1/cell surface chemokine receptor 2, MCP-1/CCR2)信号的影响, 初步阐述维生素 D₃ 对 HT 可能的作用

机制, 进而为临床应用维生素 D₃ 早期干预 HT 提供可靠的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物和主要试剂

6~8 周龄 SPF 级 Lewis 大鼠, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司上海分公司, 生产许可编号: 生产许可 SCXK(沪)2017-0011, 在室温 22~25℃, 湿度(55±10)%条件下适应性饲养 1 周, 让其自由饮食饮水。维生素 D₃ 注射液购自上海通用药业股份有限公司(国药准字 H31021404, 1 mL: 7.5 mg×10 支)。猪甲状腺球蛋白(porcine thyroglobulin, pTG)、不完全弗氏佐剂(freund incomplete adjuvant, FIA)、完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)均购于美国 Sigma 公司。促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、抗甲状腺球蛋白抗体(anti-thyroglobulin antibody, TGAb)和甲状腺过氧化物酶抗体(anti-thyroid peroxidase antibody, TPOAb)检测试剂盒, 干扰素- γ (interferon, IFN- γ)、白细胞介素-12(interleukin-12, IL-12)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)检测试剂盒均购于杭州和美生物技术有限公司。Anti-MCP1 抗体(ab7202)、Anti-CCR2 抗体(ab223366)、核因子- κ B 亚基 p65 抗体(ab16502)、

山羊抗兔 IgG H & L (HRP; ab205718)、Anti-GAPDH 抗体-loading control(ab22555)均购自 Abcam 公司。

1.2 动物模型建立

用 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 将猪甲状腺球蛋白配制成 2 mg/mL 的溶液, 将该溶液与完全弗氏佐剂等量混合充分乳化制成油包水乳剂, 以 0.8 mg/只的剂量, 采取背部、腹部多点皮下注射对大鼠进行初次免疫, 2 周和 4 周后取等体积不完全弗氏佐剂与猪甲状腺球蛋白溶液进行乳化, 采取与首免相同的剂量和方式构建 EAT 大鼠模型。

1.3 动物分组及干预方法

将实验大鼠按照随机数字表法分为 3 组, 对照组、模型组、治疗组, 其中对照组 10 只大鼠, 其余 2 组各 15 只。对照组在建立 EAT 大鼠模型免疫时均给予等体积的 PBS 与弗氏佐剂乳化液; 治疗组: 按照每只大鼠 5 mg/kg 的剂量腹腔注射 1, 25-二羟维生素 D₃[1, 25-(OH)₂D₃], 对照组和模型组均给予等体积的生理盐水, 隔天 1 次, 共 4 周。实验结束时对各组大鼠进行心脏采血, 离心收集血清, -80 °C 冰箱保存备用, 采用 10% 水合氯醛麻醉各组大鼠, 取甲状腺组织并置于 10% 中性福尔马林溶液中固定。

1.4 甲状腺组织病理形态学检测

将保存的各组大鼠甲状腺组织脱水后, 依次进行常规石蜡包埋、连续 5 μm 切片, 采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色, 之后置于普通光学显微镜下观察甲状腺组织中的炎症细胞浸润情况。以图像分析用于计算炎症细胞与甲状腺组织的比值, 炎症分级参考 Tang N 标准: 正常甲状腺组织为 0 级; 2 个以上甲状腺滤泡间有炎症细胞聚集, 即 <1% 的组织有炎症细胞浸润为 1 级; 炎症细胞病灶达 1 个甲状腺滤泡大小, 即 1%~10% 炎症细胞浸润为 2 级; 10%~40% 的甲状腺组织有炎症细胞浸润为 3 级; >40% 的甲状腺组织有炎症细胞浸润为 4 级。

1.5 甲状腺功能和血清自身抗体检测

TSH、TGAb 及 TPOAb 均采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 参照试剂盒说明书进行测定。

1.6 血清细胞因子检测

IFN-γ、IL-12、IL-4、IL-10 水平均采用相应 ELISA 试剂盒, 依据说明书检测。

1.7 甲状腺组织中 NF-κB p65 的检测

取出用 10% 福尔马林固定的甲状腺组织, 首先经过脱水、透明、石蜡包埋及连续切片后, 采用常规方法脱蜡、水化, 然后置于柠檬酸盐缓冲液中用微波修复以充分暴露抗原, 室温下 3% 的双氧水中浸泡 10 min, 以阻断内源性过氧化物酶, 封闭, 分别加适量 1:1 000 稀释的核因子-κB 亚基 p65 抗体并于 4 °C 条件下孵育过夜, 次日, PBS 冲洗干净, 分别加适量 1:2 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG H & L (HRP), 室温作用 30 min 后, PBS 冲洗干净, 加适量 DAB 显

色液作用 2~5 min 后用去离子水终止反应, 苏木素复染, 清洗后常规脱水、透明, 干燥后用中性树胶封片, 随机选取 5 个高倍光镜视野, 每个视野随机计数 200 个细胞, 根据染色强度和阳性细胞率综合评分。

1.8 甲状腺组织中 MCP-1/CCR2 信号通路的检测

采用英文特公司的动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒收集甲状腺组织中总蛋白, 以 BCA 试剂盒测定蛋白含量, 加上样缓冲液煮沸以制备蛋白电泳样品, 之后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 依次进行转膜, 封闭, 分别加稀释好的 MCP-1 和 CCR2 一抗, 4 °C 冰箱孵育过夜, PBST 洗膜, 干浄后再加相应的 HRP 标记的二抗, 室温孵育 2 h, PBST 洗膜, 加 ECL 进行显色, 暗室曝光拍照, 同时以 GAPDH 作为内参蛋白。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析。正态计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 的形式表示, 单因素方差分析用于多组间比较, 独立 *t* 检验用于 2 组间比较; 甲状腺功能和抗体、细胞因子的关系采用逐步线性回归分析; 作图使用 Graph-Pad Prism 5。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠甲状腺组织形态学比较

对照组大鼠有完整的甲状腺结构, 甲状腺滤泡大小均匀一致, 发育成熟, 呈椭圆形或圆形的小叶状排列, 淡红色胶质均匀分布于滤泡腔内, 少量血管分布于滤泡周围间质中, 未见纤维组织增生。模型组甲状腺滤泡结构遭到不同程度的破坏, 部分滤泡萎缩甚至消失, 滤泡腔内胶质稀少, 间质伴灶性淋巴细胞浸润及水肿, 纤维组织增生。治疗组甲状腺滤泡较完整, 滤泡大小较一致, 上皮细胞排列规则, 部分萎缩的甲状腺滤泡内胶质稀少, 间质少量炎症细胞浸润、水肿减轻 (图 1)。对照组大鼠炎症分级均为 0 级; 模型组 3 只 1 级, 9 只 2 级, 2 只 3 级, 1 只 4 级, 发病率 100%; 治疗组 0 级 11 只, 1 级和 2 级各 2 只, 未见 3 级、4 级 (表 1)。

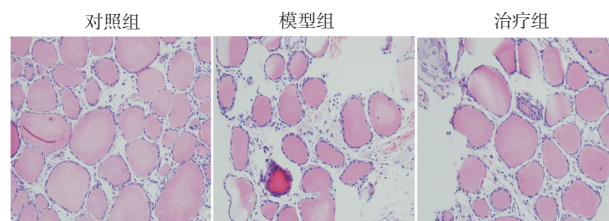


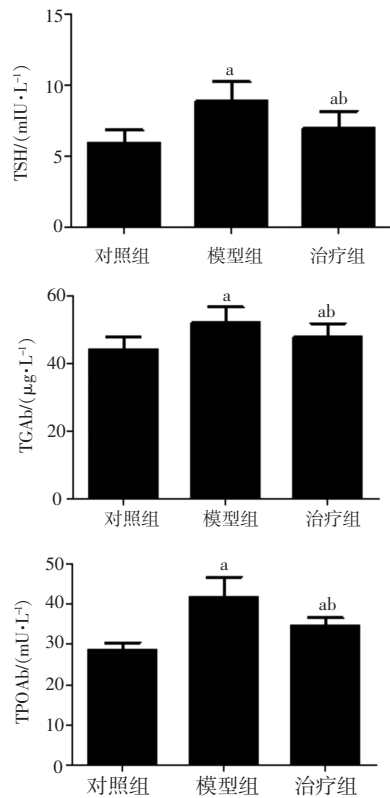
图 1 各组大鼠甲状腺组织形态学比较 (HE, 200 ×)

表 1 各组大鼠炎症分级及发病率

组别	不同级别的动物例数					发生率 /%
	0级	1级	2级	3级	4级	
对照组 (n=10)	10	0	0	0	0	0.00
模型组 (n=15)	0	3	9	2	1	100.00
治疗组 (n=15)	11	2	2	0	0	26.67

2.2 甲状腺功能和血清自身抗体水平

对照组 TSH、TGAb、TPOAb 水平分别为 (5.88 ± 0.95) IU/L、 (43.90 ± 3.96) $\mu\text{g/L}$ 、 (28.47 ± 1.96) mU/L, 模型组分别为 (8.83 ± 1.38) IU/L、 (51.88 ± 4.72) $\mu\text{g/L}$ 、 (41.77 ± 4.86) mU/L, 治疗组分别为 (6.96 ± 1.19) IU/L、 (47.62 ± 4.22) $\mu\text{g/L}$ 、 (34.58 ± 2.06) mU/L, 方差分析 3 组 TSH、TGAb、TPOAb 水平, 差异均有统计学意义 ($F=19.327, 10.345, 47.645$, 均 $P=0.000$)。模型组均明显高于对照组 ($t=5.886, 4.403, 9.499$, 均 $P=0.000$), 治疗组比模型组均明显降低 ($t=4.000, 2.603, 5.279$, $P=0.000, 0.015, 0.000$), 但明显高于对照组 ($t=2.400, 2.216, 7.392$, $P=0.025, 0.037, 0.000$) (图 2)。



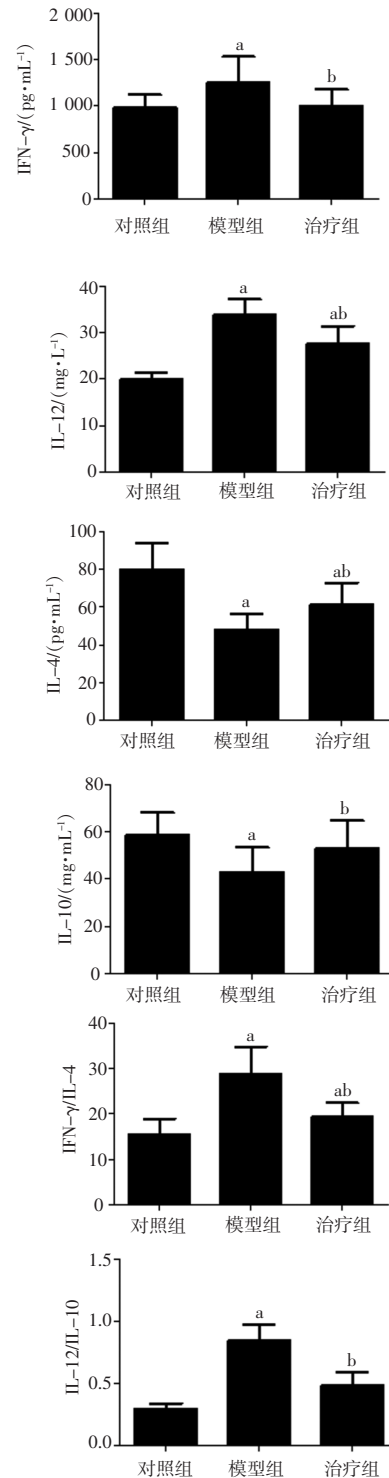
注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b, 与模型组比较, $P<0.05$

图 2 各组大鼠甲状腺功能和血清自身抗体水平

2.3 血清细胞因子水平

对照组 IFN- γ 、IL-12、IL-4、IL-10 水平及 IFN- γ /IL-4、IL-12/IL-10 分别为 (978.66 ± 147.35) pg/mL、 (19.90 ± 1.55) ng/L、 (79.93 ± 13.77) pg/mL、 (58.41 ± 9.71) ng/L、 15.44 ± 3.51 、 0.29 ± 0.05 , 模型组分别为 $(1\ 252.38 \pm 279.01)$ pg/mL、 (33.80 ± 3.37) ng/L、 (47.74 ± 8.73) pg/mL、 (42.96 ± 10.47) ng/L、 28.81 ± 5.97 、 0.84 ± 0.13 , 治疗组分别为 $(1\ 001.26 \pm 177.83)$ pg/mL、 (27.63 ± 3.80) ng/L、 (61.05 ± 11.74) pg/mL、 (52.90 ± 11.87) ng/L、 19.36 ± 3.17 、 0.48 ± 0.11 , 方差分析 3 组水平, 差异均有统计学意义 ($F=6.825, 56.117, 24.448, 6.645, 30.327, 86.049$, $P=0.003, 0.000, 0.000, 0.003, 0.000, 0.000$)。相比对照组, 模型组 IFN- γ 、IL-12、IFN- γ /IL-4 及 IL-12/IL-10 均明显升高 ($t=2.836$ 、

$13.895, 6.360, 14.834$, $P=0.009, 0.000, 0.000, 0.000$), IL-4 和 IL-10 明显降低 ($t=7.179, 3.718$, $P=0.000, 0.001$)。与模型组相比, 治疗组 IFN- γ 、IL-12、IFN- γ /IL-4 及 IL-12/IL-10 均明显降低 ($t=2.940, 4.700, 5.416, 8.178$, $P=0.007, 0.000, 0.000, 0.000$), IL-4 和 IL-10 明显升高 ($t=3.522, 2.432$, $P=0.001, 0.022$) (图 3)。



注: a, 与对照组比较, $P<0.05$; b, 与模型组比较, $P<0.05$

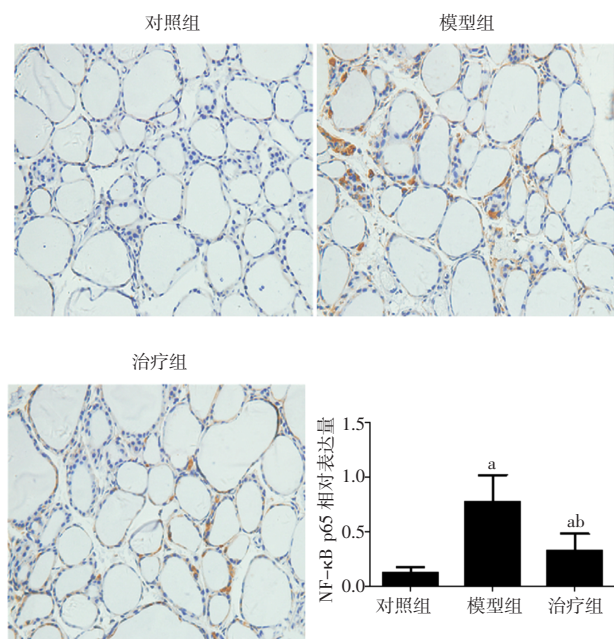
图 3 各组大鼠血清细胞因子水平

2.4 逐步线性回归分析

将 TSH 作为因变量,甲状腺抗体 TGAb、TPOAb 和细胞因子 IFN- γ 、IL-12、IL-4 及 IL-10 作为自变量。结果显示, TGAb、TPOAb、IFN- γ 、IL-12 均与 TSH 呈正相关性, IL-4 和 IL-10 与 TSH 呈负相关性($r=0.872, 0.868, 0.731, 0.706, -0.557, -0.236$, 均 $P<0.001$)。逐步回归方程决定系数 $R^2=0.902$, 方程有统计学意义($F=189.754, P<0.001$)。其中, TGAb、TPOAb、IL-12 与 TSH 有非常明显性关系, 方程 $TSH=-4.628+0.104TGAb+0.193TPOAb+0.087IL-12$ (均 $P<0.001$)。

2.5 甲状腺组织中 NF- κ B p65 蛋白水平

对照组、模型组及治疗组大鼠甲状腺组织中的 NF- κ B p65 蛋白相对表达量分别为 $0.12 \pm 0.06, 0.77 \pm 0.25, 0.33 \pm 0.15$, 方差分析 3 组差异均有统计学意义($F=43.761, P=0.000$)。模型组 NF- κ B p65 水平明显高于对照组($t=9.699, P=0.000$), 治疗组比模型组明显下降($t=5.906, 2.432, P=0.000$) (图 4)。

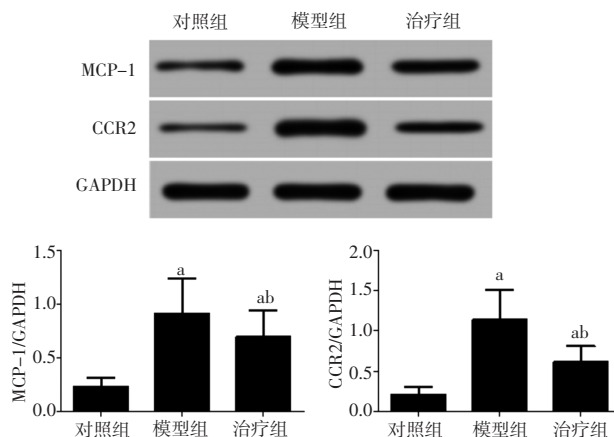


注:a,与对照组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

图 4 各组大鼠甲状腺组织中 NF- κ B p65 蛋白水平 (SP, 200 $\times$)

2.6 甲状腺组织中 MCP-1、CCR2 蛋白水平

对照组大鼠甲状腺组织中 MCP-1 和 CCR2 相对表达量分别为 $0.23 \pm 0.08, 0.21 \pm 0.09$, 模型组分别为 $0.91 \pm 0.33, 1.15 \pm 0.36$, 治疗组分别为 $0.65 \pm 0.29, 0.61 \pm 0.20$, 方差分析 3 组差异均有统计学意义($F=18.601, 43.381$, 均 $P=0.000$)。模型组 MCP-1 和 CCR2 水平明显高于对照组($t=7.666, 9.806$, 均 $P=0.000$), 治疗组比模型组明显下降($t=2.267, 5.143, P=0.031, 0.000$) (图 5)。



注:a,与对照组比较, $P<0.05$;b,与模型组比较, $P<0.05$

图 5 各组大鼠甲状腺组织中 MCP-1、CCR2 蛋白水平

3 讨论

作为人类最常见的器官特异性自身免疫病, HT 是一种内分泌疾病,也是影响儿童获得性甲状腺功能减低的重要原因。其发病率约占甲状腺疾病的 20%, 仅次于甲亢, 且尚无有效的治疗方法^[6]。目前常将 EAT 动物模型作为研究 HT 的重要工具^[5]。本研究通过免疫 pTG 诱导 Lewis 大鼠建立的 EAT 动物模型中, 大鼠甲状腺滤泡结构紊乱, 滤泡萎缩或消失, 间质稀少, 淋巴细胞浸润及水肿明显, 纤维组织增生; 血清中 TSH 和甲状腺特异性抗体 TGAb、TPOAb 水平均明显升高, 提示甲状腺功能下降。这符合文献中关于 EAT 动物模型建立成功的 2 个标准^[7-8], 说明本研究成功建立了 EAT 动物模型。早期文献表明, HT 患者的维生素 D 水平明显低于健康组, 提示 HT 发病可能与维生素 D 不足有关^[9]。此外, 血清维生素 D 和 TPOAb 水平具有明显负相关性, 维生素 D 充足的 HT 患者 TPOAb 水平明显低于维生素 D 不足的患者^[10]。本研究给予维生素 D₃ 治疗后, 大鼠甲状腺组织病理变化改善明显, 炎症细胞浸润程度减轻, 炎症分级降低, 血清中 TSH、TGAb 和 TPOAb 水平升高幅度下降, 证实维生素 D₃ 可减轻自身免疫性甲状腺炎, 对 EAT 大鼠模型发挥一定的保护作用。

诸多文献报道, 在自身免疫性甲状腺疾病中具有重要作用的 Th1/Th2 细胞平衡被打破^[11]。而维生素 D 被证实非肥胖性糖尿病、实验性自身免疫脑脊髓膜炎等以 Th1 类细胞功能亢进为主的器官特

异性自身免疫疾病动物模型中,可抑制 Th1 类淋巴细胞活性进而使自身免疫反应被阻止^[12]。本研究发现,HT 中 Th1 型细胞因子占优势,维生素 D₃ 干预可能通过下调 Th1 型细胞因子 IFN- γ 、IL-12,上调 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-10,进而利于恢复 Th1/Th2 细胞免疫平衡状态,以减轻自身免疫性甲状腺炎,这与以往报道相符^[13]。

转录因子 NF- κ B 可通过启动下游炎症因子的表达进而调控炎症的发生发展。组织损伤使 NF- κ B 抑制蛋白激酶复合体被激活并发生磷酸化,在蛋白酶小体水解作用下与 NF- κ B 解离,进而暴露 NF- κ B 的 p50 亚基并移位细胞核,之后结合靶基因启动区或增强子上的 NF- κ B 位点,最终导致促炎症因子大量表达,这些促炎症因子反过来又能加速 NF- κ B 的活化^[14]。本研究结果提示,EAT 大鼠发病过程中可能有 NF- κ B 信号通路的参与,维生素 D₃ 通过抑制 NF- κ B p65 蛋白的激活进而抑制促炎症细胞因子的表达。

MCP-1/CCR2 信号轴能趋化巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、记忆和杀伤 T 淋巴细胞等多种炎症细胞至炎症病灶进而发挥免疫作用。由内皮细胞、成纤维细胞及单核巨噬细胞等间质细胞和肿瘤细胞分泌至外周血中的 MCP-1,对 T 淋巴细胞和单核细胞均发挥较强的趋化作用。作为一种 G 蛋白偶联受体,CCR2 广泛表达于 NK 细胞、内皮细胞及成纤维细胞的前体细胞等单核细胞上。曾蓉等^[15]报道,MCP-1 在 HT 患者甲状腺滤泡上皮细胞中高水平表达。Dutta P 等^[16]研究发现,经手术切除的 HT 患者甲状腺组织中 MCP-1 的表达水平明显高于结节性甲状腺肿患者。本研究结果提示,HT 发病时在炎症组织中炎症细胞向组织浸润聚集的过程中,MCP-1/CCR2 轴可能发挥重要作用,而维生素 D₃ 可通过下调 MCP-1/CCR2 轴进而有效减轻炎症细胞的聚集。

综上所述,维生素 D₃ 可能是作为一种免疫调节因子,通过维持机体免疫平衡,减轻甲状腺炎,改善甲状腺功能,抑制甲状腺抗体生成,从而保护甲状腺。目前,桥本甲状腺炎的临床治疗仍是一大难点,单一治疗很难取得良好疗效,今后或可通过科学补充适量维生素 D₃ 以辅助治疗桥本甲状腺炎。

参 考 文 献

- [1] 杨 成,金剑虹,唐成坤,等. 自身免疫性甲状腺炎中西医研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志,2018,28(4):335-338.
- [2] Ruggeri RM, Trimarchi F, Giuffrida G, et al. Autoimmune comorbidities in Hashimoto's thyroiditis: different patterns of association in adulthood and childhood/adolescence[J]. Eur J Endocrinol, 2017, 176(2): 133-141.
- [3] 王 君, 韩亚玲. 维生素 D 与甲状腺疾病的相关研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(21): 4245-4249, 4255.
- [4] Wang S, Wu Y, Zuo Z, et al. The effect of vitamin D supplementation on thyroid autoantibody levels in the treatment of autoimmune thyroiditis: a systematic review and a Meta-analysis[J]. Endocrine, 2018, 59(3): 499-505.
- [5] Yi H, Wang T, Guo X, et al. Protective effects of Jiayan Kangtai granules on autoimmune thyroiditis in a rat model by modulating Th17/Treg cell balance[J]. J Tradit Chin Med, 2018, 38(3): 380-390.
- [6] Ciurleo R, Sessa E, Marino S, et al. Acute exacerbation of Hashimoto's thyroiditis in a patient treated with dimethyl fumarate for multiple sclerosis: a case report[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(17): e15185.
- [7] Ulrich J, Goerges J, Keck C, et al. Impact of autoimmune thyroiditis on reproductive and metabolic parameters in patients with polycystic ovary syndrome[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2018, 126(4): 198-204.
- [8] 杨 潇, 李国信, 王智民, 等. 中药干预自身免疫性甲状腺炎的研究现状和展望[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2017, 19(5): 869.
- [9] Lin Z, Wang Y, Liu C, et al. Role of virtual touch tissue quantification in Hashimoto's thyroiditis[J]. Ultrasound Med Biol, 2018, 44(6): 1164-1169.
- [10] 杨雪威, 王思源, 徐锦江, 等. 运动联合维生素 D 对实验性自身免疫性甲状腺炎小鼠的保护作用[J]. 东南大学学报(医学版), 2019, 38(2): 323-327.
- [11] 俞灵莺, 傅晓丹, 章晓芳, 等. 夏枯草干预实验性自身免疫甲状腺炎 Th1/Th2 失衡的研究[J]. 中华全科医学, 2018, 16(5): 725-728, 743.
- [12] Chen YF, Zheng JJ, Qu C, et al. Inonotus obliquus polysaccharide ameliorates dextran sulphate sodium induced colitis involving modulation of Th1/Th2 and Th17/Treg balance[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1): 757-766.
- [13] Safdari V, Alijani E, Nemati M, et al. Imbalances in T cell-related transcription factors among patients with Hashimoto's thyroiditis[J]. Sultan Qaboos Univ Med J, 2017, 17(2): e174-180.
- [14] Liu H, Tian Q, Ai X, et al. Dihydroartemisinin attenuates autoimmune thyroiditis by inhibiting the CXCR3/PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(70): 115028-115040.
- [15] 曾 蓉, 牛 恒, 张国桥, 等. MCP-1/CCR2 信号轴在甲状腺乳头状癌合并桥本氏甲状腺炎患者中的表达及意义[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(7): 660-667.
- [16] Dutta P, Sarkissyan M, Paico K, et al. MCP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancers and drives cancer invasiveness and metastasis[J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 170(3): 477-486.

(责任编辑:唐秋姗)