

疾病中免疫反应研究

DOI: 10.11699/cyxb20130728

趋化因子 MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1 在自身免疫性甲状腺疾病中的表达及意义

任欣会, 张会娟, 高慧祯

(郑州大学第一附属医院内分泌科, 郑州 450000)

【摘要】目的:探讨趋化因子巨噬细胞炎性蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α)、巨噬细胞炎性蛋白-1 β (macrophage inflammatory protein-1 β , MIP-1 β) 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 在自身免疫性甲状腺疾病发生发展中的作用。**方法:**应用免疫组化方法观察 MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 在 44 例 Graves 病 (Graves disease, GD) 和 19 例桥本甲状腺炎 (hashimoto thyroiditis, HT)、14 例甲状腺腺瘤、10 例结节性甲状腺肿及 8 例正常甲状腺组织 (取自良性腺瘤周围) 中的表达情况。**结果:**MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1 蛋白定位于甲状腺滤泡上皮细胞质, 其在 GD、TH 组织中的表达阳性率及总评分显著高于结节性甲状腺肿及正常甲状腺组织。**结论:**MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1 可能参与了自身免疫性甲状腺疾病的发生发展, 有可能作为自身免疫性甲状腺疾病监测和治疗的新靶点。

【关键词】自身免疫性甲状腺疾病; 巨噬细胞炎性蛋白-1 α ; 巨噬细胞炎性蛋白-1 β ; 单核细胞趋化蛋白-1

【中国图书分类法分类号】R322.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-09-14

Expressions and significances of chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and MCP-1 in autoimmune thyroid disease

REN Xinhui, ZHANG Huijuan, GAO Huizhen

(Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital, Zhengzhou University)

【Abstract】Objective: To explore the role and development of chemokines macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α), macrophage inflammatory protein-1 β (MIP-1 β) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in adults with autoimmune thyroiditis. **Methods:** Totally 44 cases of Graves disease (GD), 19 cases of hashimoto thyroiditis (HT), 14 cases of thyroid adenoma, 10 cases of multinodular goiter and 8 cases of surrounding normal tissues were collected. Expressions of chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and MCP-1 were determined by immunohistochemical method. **Results:** Chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and MCP-1 were located in the cytoplasm of the thyroid follicular epithelial cells. Expression levels and scores of chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and MCP-1 were significantly higher in GD and HT than in multinodular goiter and thyroid normal tissues. **Conclusions:** Chemokines MIP-1 α , MIP-1 β and MCP-1 may participate in the development of the autoimmune thyroid diseases and may become new targets of monitoring and treatment of autoimmune thyroid diseases.

【Key words】autoimmune thyroid disease; macrophage inflammatory protein-1 α ; macrophage inflammatory protein-1 β ; monocyte chemoattractant protein-1

巨噬细胞炎性蛋白-1 α (macrophage inflammatory protein-1 α , MIP-1 α)、巨噬细胞炎性蛋白-1 β

(macrophage inflammatory protein-1 β , MIP-1 β) 和单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 是体内一些重要的趋化因子, 具有趋化淋巴细胞并形成淋巴滤泡的功能, 已证实其参与了多种自身免疫性疾病的发生和发展。Graves 病 (Graves disease, GD) 和桥本甲状腺炎 (hashimoto

作者介绍: 任欣会, Email: renxinhui2005@126.com,

研究方向: 甲状腺疾病。

通信作者: 张会娟, Email: rjmli@sina.com。

基金项目: 河南省医学科技攻关计划资助项目 (编号: 200903026)。

thyroiditis, HT)是临床上常见的自身免疫性甲状腺疾病,以甲状腺内有大量淋巴细胞浸润和甲状腺自身抗体形成为特征。趋化因子是否参与了自身免疫性甲状腺疾病的发生发展,目前国内外研究较少。本研究应用免疫组化方法观察 MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 在 GD、HT、甲状腺腺瘤、结节性甲状腺肿及正常甲状腺组织中的表达情况,以探讨这些趋化因子在自身免疫性甲状腺疾病发生发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 一般资料

所有甲状腺组织标本均取自 2009–2011 年在我院住院的甲状腺手术患者标本,其中 GD 组 44 例(男 33 例,女 11 例),年龄(33.40 ± 1.51)岁;TH 组 19 例(男 0 例,女 19 例),年龄(47.40 ± 2.24)岁;结节性甲状腺肿组 10 例(男 4 例,女 6 例),年龄(55.10 ± 3.32)岁;甲状腺腺瘤组 14 例(男 4 例,女 10 例),年龄(42.30 ± 4.07)岁,正常对照组 8 例(男 2 例,女 6 例),年龄(43.30 ± 3.08)岁,标本为取自甲状腺腺瘤周围正常组织。纳入标准:所有病例均经临床、实验室检查及病理诊断确诊;排除标准:排除近期有感染史、女性妊娠、合并其他免疫性疾病。

1.2 试剂

抗原修复液 pH 6.0 柠檬酸缓冲液(自备);0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS 自备)。

1.3 方法

所有组织标本经 10%中性甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片行 HE 和 SP 免疫组化染色。兔抗人 MIP-1 α 、MIP-1 β 、MCP-1 试剂盒均购自北京博奥森公司,SP 免疫组化试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。以博奥森公司提供的阳性切片作为染色的阳性对照,以 PBS 代替一抗作为每次染色的阴性对照。每张切片随机选择互不

重叠的 10 个高倍镜视野,结果判定:细胞质内含黄色颗粒为阳性细胞。评分标准:将染色强度评分(无染色为 0 分,淡黄为 1 分,棕黄为 2 分,棕褐为 3 分)与细胞阳性率评分(细胞阳性率 < 5% 为 0 分,5%~25% 为 1 分,>25%~50% 为 2 分,>50%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分)的乘积作为该病例的评分。根据评分判断表达强度,0 分为阴性(-),1~2 分为弱阳性(+),3~6 分为阳性(++),>6 为强阳性(+++)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件包进行数据处理。患者年龄以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,染色阳性率以百分数(%)表示。阳性率比较采用卡方检验,其两两比较采用 Fisher 确切概率法;染色评分采用等级资料的非参数检验,两两比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。检验水准 $\alpha=0.05$ (双侧),以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义;两两比较采用 GD、TH 分别与结节性甲状腺肿、甲状腺腺瘤及正常组比较,检验水准调整为 $\alpha=0.05/6=0.0083$ (双侧),以 $P \leq 0.0083$ 为差异有统计学意义。

2 结果

MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 免疫反应产物定位于甲状腺滤泡上皮细胞质,在邻近炎性细胞浸润区的甲状腺滤泡上皮细胞上表达较强。在 TH 组织中,可见甲状腺滤泡上皮细胞核及部分淋巴滤泡生发中心淋巴细胞亦有阳性表达,被大量淋巴细胞和浆细胞浸润的间质中残存的甲状腺滤泡细胞团几乎全部表达,HE 染色为嗜酸性变的细胞表达强度更高,染色呈棕褐色团块状。如表 1~3 所示:MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 在 GD、TH 组织中表达阳性率和总评分明显高于正常甲状腺组织、结节性甲状腺肿及甲状腺腺瘤($P < 0.05$);腺瘤与正常甲状腺组织比较其阳性率与评分有统计学意义($P < 0.05$),但与结节性甲状腺肿比较差异无统计学意义($P > 0.05$);MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 在 GD 与 TH 组织中的表达阳性率及评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 MIP-1 α 在各组甲状腺组织中表达的比较

Tab.1 Comparison of expressions of MIP-1 α in each group

病理类型	例数(n)	MIP-1 α				阳性率(%)	χ^2 值	P 值
		-	+	++	+++			
GD ^①	44	2	6	24	12	95.5	42.162	0.000
TH ^②	19	1	2	4	12	94.7		
甲状腺腺瘤 ^③	14	5	2	7	0	63.4		
结节性甲状腺肿 ^④	10	6	3	1	0	40.0		
正常甲状腺组织 ^⑤	8	6	2	0	0	25.0		

注:MIP-1 α 在各组间表达强度的两两比较(①、②分别与③、④、⑤两两比较, $\alpha=0.05/6=0.083$):①和⑤ $Z=1.897$, $P=0.001$,②和⑤ $Z=1.998$, $P=0.001$,①和④ $Z=2.050$, $P=0.000$,②和④ $Z=1.900$, $P=0.001$,②和③ $Z=1.793$, $P=0.000$;MIP-1 α 在各组间阳性率的两两比较(Fisher 确切概率法):①和⑤ $P=0.000$,②和⑤ $P=0.000$,①和④ $P=0.000$,②和④ $P=0.003$,①和③ $P=0.007$

表 2 MIP-1 β 在各组甲状腺组织中表达的比较
Tab.2 Comparison of expressions of MIP-1 β in each group

病理类型	例数 (n)	MIP-1 β				阳性率(%)	χ^2 值	P 值
		-	+	++	+++			
GD ^①	44	1	4	24	15	97.7		
桥本甲状腺炎 ^②	19	0	2	7	10	100.0	40.681	0.000
甲状腺腺瘤 ^③	14	4	21	8	1	71.4	39.062	0.000
结节性甲状腺肿 ^④	10	5	3	2	0	50.0		
正常甲状腺组织 ^⑤	8	6	2	0	0	25.0		

注: MIP-1 β 在各组间表达强度的两两比较 (①、②分别与③、④、⑤两两比较, $\alpha=0.05/6=0.083$): ①和⑤ $Z=2.306$, $P=0.000$, ②和⑤ $Z=2.123$, $P=0.000$, ①和④ $Z=1.959$, $P=0.001$, ②和④ $Z=1.778$, $P=0.004$, MIP-1 β 在各组间阳性率的两两比较 (Fisher 确切概率法): ①和⑤ $P=0.000$, ②和⑤ $P=0.000$, ①和④ $P=0.000$, ②和④ $P=0.002$, ①和③ $P=0.010$, ②和③ $P=0.024$

表 3 MCP-1 在各组甲状腺组织中表达的比较
Tab.3 Comparison of expressions of MCP-1 in each group

病理类型	例数 (n)	MCP-1				阳性率(%)	χ^2 值	P 值
		-	+	++	+++			
GD ^①	44	2	2	20	20	95.5		
桥本甲状腺炎 ^②	19	0	1	8	10	100.0	52.261	0.000
甲状腺腺瘤 ^③	14	5	4	5	0	64.3	40.314	0.000
结节性甲状腺肿 ^④	10	4	6	0	0	60.0		
正常甲状腺组织 ^⑤	8	7	1	0	0	12.5		

注: MCP-1 在各组间表达强度的两两比较 (①、②分别与③、④、⑤两两比较, $\alpha=0.05/6=0.083$): ①和⑤ $Z=2.365$, $P=0.000$, ②和⑤ $Z=2.248$, $P=0.000$, ①和④ $Z=2.595$, $P=0.000$, ②和④ $Z=2.425$, $P=0.000$, ①和③ $Z=1.799$, $P=0.003$, ②和③ $Z=1.676$, $P=0.007$; MCP-1 在各组间阳性率的两两比较 (Fisher 确切概率法): ①和⑤ $P=0.000$, ②和⑤ $P=0.000$, ③和⑤ $P=0.031$, ①和④ $P=0.008$, ②和④ $P=0.009$, ①和③ $P=0.007$, ②和③ $P=0.000$

3 讨论

研究表明, MIP-1 能促使 T 细胞由血循环进入炎症组织, 并趋化单核细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞穿过血管内皮细胞进入炎症部位^[1]; 甲状腺滤泡上皮表达的 MCP-1 主要趋化单核细胞和 T 淋巴细胞, 诱导其向病变部位聚集, 调节 TNF- α 和白三烯的释放^[2-3], 促成炎症反应, 另有研究表明 MCP-1 能够趋化 B 细胞及树突状细胞向炎症部位及血液中聚集^[4]。

MIP-1 和 MCP-1 在多种自身免疫性疾病发生发展中的作用已有较多的研究。Kulich 等^[5]报道 MIP-1 α 在类风湿性关节炎的全身性炎症反应中起着重要作用, 另有报道称 MCP-1 在趋化巨噬细胞向肿胀的关节移动中起着重要作用^[6-7]。Vila 等^[8]称 MIP-1 α 、MIP-1 β 在系统性红斑狼疮的发病过程及多器官损害中起着重要作用; 干燥综合征干眼病患者血液和泪液中 MIP-1 α 和 MIP-1 β 明显增高^[9]。Messadi 等^[10]应用检测到 MCP-1 及其受体在多发性

硬化病中的表达显著增高。Kemp 等^[11]曾报道过应用免疫组织化学法和 RT-PCR 对 GD 和 HT 患者中的 MCP-1、T 细胞表达和分泌的因子、MIP-1 α 、MIP-1 β 等趋化因子进行研究, 结果表明: 这些趋化因子在大部分的 GD 和全部 HT 患者的甲状腺滤泡上皮细胞中表达增强, 而在非自身免疫性甲状腺肿组织中很少表达, 但其研究的病例数较少, GD 6 例, HT 仅 4 例, 非自身免疫性甲状腺肿亦仅 4 例。

本研究应用 SP 免疫组织化学方法对 44 例 GD, 19 例 HT, 14 例甲状腺腺瘤, 10 例结节性甲状腺肿和 8 例腺瘤周围正常甲状腺组织进行研究, 结果发现, MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 免疫反应产物主要定位于甲状腺滤泡上皮细胞质。与正常甲状腺组织、结节性甲状腺肿及甲状腺腺瘤组织相比, GD 和 HT 患者甲状腺组织内 MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 的表达明显较高, 尤其是甲状腺滤泡上皮细胞增生明显处和淋巴细胞浸润明显处表达强度更高, HT 标淋巴细胞和浆细胞浸润的间质中残存的甲状腺滤泡细胞团几乎全部表达, HE 染色为嗜酸性变的细胞表达强度更高, 染色呈棕褐色团块状。此结果

与 Kemp 等研究结果^[11]基本一致,提示甲状腺滤泡上皮细胞通过产生趋化因子 MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1,促使多种炎症调节因子的释放,趋化各种炎症细胞浸润甲状腺组织,从而启动和促进甲状腺自身免疫反应的发生和发展。本研究还发现,MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 在一些 HT 甲状腺组织中淋巴滤泡生发中心的淋巴细胞也呈阳性表达,提示这些趋化因子可能直接参与了甲状腺组织中淋巴滤泡的形成,进一步证实 MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 可能在自身免疫性甲状腺疾病的发生发展中起着重要作用。本研究的病例数较少,对于结果的推断可能存在某些偏差,要想进一步阐明 MIP-1 α 、MIP-1 β 和 MCP-1 在自身免疫性甲状腺疾病中的作用,有待进行大量本、更深入的研究。

随着对趋化因子及其受体研究的不断进展,今后有可能通过有选择性地抑制趋化因子及其受体的表达,减少炎症细胞对甲状腺组织的浸润,减缓疾病的发生发展,为自身免疫性甲状腺疾病的临床治疗开辟一条新的途径。

参 考 文 献

- [1] Pellegrino A, Yacca A, Scavell C, et al. Chemokines and tumors[J]. Recent Prog Med, 2002, 99(1): 642-654.
- [2] Deshmane S L, Kremlev S, Amini S, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview[J]. J Interferon Cytokine Res, 2009, 29(6): 313-326.
- [3] Ramos C D, Canetti C, Souto J T, et al. MIP-1 α [CCL3] acting on the CCR1 receptor mediates neutrophil migration in immune inflammation via sequential release of TNF- α and LTB $_4$ [J]. J Leukoc Biol, 2005, 78(1): 167-177.
- [4] Zhao L, Toriumi H, Wang H, et al. Expression of MIP-1 α (CCL3) by a recombinant rabies virus enhances its immunogenicity by inducing innate immunity and recruiting dendritic cells and B cells[J]. J Virol, 2010, 84(18): 9642-9648.
- [5] Kullich W, Niksic F, Burmucic K, et al. Effects of the chemokine MIP-1 α on anemia and inflammation in rheumatoid arthritis[J]. Z Rheumatol, 2002, 61(5): 568-576.
- [6] El-Shehaby A, Darweesh H, El-Khatib M, et al. Correlations of urinary biomarkers, TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK), osteoprotegerin (OPG), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and IL-8 with lupus nephritis[J]. J Clin Immunol, 2011, 31(5): 848-856.
- [7] 林 涛, 吕昊哲, 马玉霞, 等. 类风湿关节炎患者血清单核细胞趋化蛋白-1 水平及与间质性肺疾病的关系[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2010, 26(1): 59-60.
- Ling T, Lv H Z, Ma Y X, et al. Relationship between the level of MCP-1 expression in sera of RA patients and ILD[J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2010, 26(1): 59-60.
- [8] Vila L M, Molina M J, Mayor A M, et al. Association of serum MIP-1 α , MIP-1 β , and RANTES with clinical manifestations, disease activity, and damage accrual in systemic lupus erythematosus[J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(5): 718-722.
- [9] Malesinski R, Bakunowicz-Lazarczyk A, Wysocka J. The role of chemokines CCL3/ MIP-1 α and CCL4/ MIP-1 β in pathogenesis of dry eye syndrome[J]. Klin Oczna, 2008, 110(7-9): 277-279.
- [10] Messadi A, Fekih-Mrissa N, Kallel A, et al. Lack of association between monocyte protein-1 (MCP-1)-2518 A>G chemoattractant and C-C chemokine receptor 2 (CCR2) Val64Ile polymorphisms and multiple sclerosis in a Tunisian population[J]. J Clin Neurosci, 2010, 17(10): 1311-1313.
- [11] Kemp E H, Metcalfe R A, Smith K A, et al. Detection and localization of chemokine gene expression in autoimmune thyroid disease[J]. J Clin Endocrinol (Oxf), 2003, 59(2): 207-213.

(责任编辑:唐秋姗)

《重庆医科大学学报》

欢迎赐稿、订阅

网址: cyxb.alljournals.ac.cn

邮发代号: 78-132