

# 苦参素对实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠 Th1/Th2 细胞平衡及相关通路的影响

姚 婷<sup>1</sup>, 高 原<sup>1</sup>, 曾芳馨<sup>2</sup>

(1. 成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院内分泌科, 成都 610051; 2. 达州市中西医结合医院内分泌风湿免疫科, 达州 635000)

**[摘要]** 目的 探讨苦参素对实验性自身免疫性甲状腺炎(EAT)大鼠炎症反应、辅助性T淋巴细胞(Th)1/Th2、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及细胞表面趋化因子受体2(CCR2)信号的影响。方法 将75只Lewis大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组和苦参素低、中、高剂量组。用免疫猪甲状腺球蛋白(pTG)诱导建立EAT大鼠模型,苦参素低、中、高剂量组分别灌胃0.2、0.4和0.6 g/kg的苦参素,给药体积2 mL,对照组和模型组均给予等体积生理盐水,隔日1次,共4周。HE染色观察大鼠甲状腺组织形态学变化;ELISA法检测血清中促甲状腺激素(TSH)、抗甲状腺球蛋白抗体(TGAb)和甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb),以及细胞因子干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素(IL)-12、IL-4和IL-10水平;蛋白质印迹法检测甲状腺组织中MCP-1/CCR2信号轴。结果 与对照组相比,模型组TSH、TGAb、TPOAb、IFN- $\gamma$ 、IL-12、IFN- $\gamma$ /IL-4、IL-12/IL-10、NF- $\kappa$ Bp65及MCP-1、CCR2蛋白水平均明显升高,IL-4、IL-10水平明显降低(均 $P < 0.05$ );苦参素低、中、高剂量组大鼠TSH、TGAb、TPOAb、IFN- $\gamma$ 、IL-12、IFN- $\gamma$ /IL-4、IL-12/IL-10、NF- $\kappa$ Bp65及MCP-1、CCR2蛋白水平均明显降低,IL-4、IL-10水平明显升高(均 $P < 0.05$ ),且呈剂量依赖性。结论 苦参素能抑制甲状腺抗体生成,下调Th1型细胞因子,上调Th2型细胞因子,进而降低Th1和Th2比值,并抑制MCP-1/CCR2信号轴,发挥对自身免疫性甲状腺炎大鼠的保护作用。

**[关键词]** 苦参素; 实验性自身免疫性甲状腺炎; Th1/Th2; MCP-1/CCR2信号; Lewis大鼠

**[中图分类号]** Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2021)03-0244-08

## Effects of Matrine on Th1/Th2 Balance and Related Pathways in Rats with Experimental Autoimmune Thyroiditis

YAO Ting<sup>1</sup>, GAO Yuan<sup>1</sup>, ZENG Fangxin<sup>2</sup>

(1. Department of Endocrinology, Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College • China National Nuclear Corporation 416 Hospital, Chengdu 610051, China; 2. Department of Endocrinology and Rheumatism & Immunology, Dazhou Integrated TCM & Western Medicine Hospital, Dazhou 635000, China)

Correspondence to: ZENG Fangxin, E-mail: 363464341@qq.com

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects of matrine on inflammation, helper T lymphocytes (Th)1/Th2, and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)/cell surface chemokine receptor 2 (CCR2) signaling in rats with experimental autoimmune thyroiditis (EAT). **Methods** Seventy-five Lewis rats were divided into control, model, and low-, medium-, and high-dose matrine groups using the random number table method ( $n = 15$  each). The EAT rat model was induced by immunization with porcine thyroglobulin (pTG). The low-, medium-, and high-dose groups were intragastrically administered 0.2, 0.4, and 0.6 g/kg matrine, respectively, at a volume of 2 mL. Rats in the control and model groups were given 2 mL of normal saline,

**[作者简介]** 姚 婷(1978—), 副主任医师, 研究方向: 糖尿病、甲状腺疾病。E-mail: yt416301@163.com

**[通信作者]** 曾芳馨(1978—), 副主任医师, 研究方向: 糖尿病、甲状腺疾病。E-mail: 363464341@qq.com

once every other day for 4 weeks. The histomorphological changes in the thyroid were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. Serum levels of thyroid stimulating hormone (TSH), anti-thyroglobulin antibody (TGA), thyroid peroxidase antibody (TPOAb), cytokine interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), and interleukin (IL)-12, IL-4, and IL-10 were detected by ELISA. **Results** Compared with the TSH, TGA, TPOAb, IFN- $\gamma$ , IL-12, IFN- $\gamma$ /IL-4, IL-12/IL-10, nuclear factor-kappa B p65 (NF- $\kappa$ Bp65), MCP-1, and CCR2 protein levels in the control group, those in the model group were significantly increased, and the levels of IL-4 and IL-10 were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). After matrine treatment, TSH, TGA, TPOAb, IFN- $\gamma$ , IL-12, IFN- $\gamma$ /IL-4, IL-12/IL-10, NF- $\kappa$ Bp65, MCP-1, and CCR2 protein levels were significantly decreased, and IL-4 and IL-10 levels were significantly increased ( $P < 0.05$ ); the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Matrine can inhibit the production of thyroid antibodies, downregulate Th1 cytokines, and upregulate Th2 cytokines, thus reducing the Th1/Th2 ratio and inhibiting the MCP-1/CCR2 signaling axis, thus playing a protective role in EAT.

**[Key words]** Matrine; Experimental autoimmune thyroiditis; Th1/Th2 cells; MCP-1/CCR2 signaling; Lewis rats

自身免疫性甲状腺炎 (autoimmune thyroiditis, AIT), 又称为桥本甲状腺炎 (Hashimoto's thyroiditis, HT)<sup>[1]</sup>, 是临床上常见的器官特异性自身免疫性疾病。目前, 临床上广泛采用免疫抑制剂、糖皮质激素等药物进行治疗, 上述药物虽能有效缓解患者症状, 但会严重损伤机体的免疫能力<sup>[2]</sup>。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) 信号通路是趋化因子 $\beta$ 和CC家族的重要成员, 可影响T细胞在体内的分化, 而AIT的发生与T细胞特别是辅助性T淋巴细胞 (helper T lymphocytes, Th) 1/Th2型细胞因子的表达有关, 因此MCP-1/CCR2信号通路影响着AIT的发生和发展<sup>[3]</sup>。

苦参素 (matrine) 是从传统药材苦参 (学名: *Sophora flavescens*) 的根中提取的生物碱, 对类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症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<sup>[4]</sup>。近年来研究表明, 苦参素能降低甲状腺自身抗体, 抑制甲状腺自身免疫反应, 因而能对AIT发挥一定疗效<sup>[5]</sup>, 然而尚不完全清楚其作用机制。因此, 本实验通过建立与AIT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<sup>[5]</sup>, 探讨苦参素对EAT大鼠甲状腺功能及MCP-1/CCR2信号通路的影响, 初步阐述苦参素对EAT可能的作用机制, 进而为临床应用苦参素早期干预AIT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级雄性Lewis大鼠75只, 购自四川大学实验动物中心[SCXK(川)2018-026], 在环境温度为(25±2)℃, 相对湿度(50±10)%, 12h循环光照设施[SYXK(川)2018-185]中适应性饲养1周, 自由饮食。苦参素注射液 (批号: 150422304), 0.3 g/mL, 购自江苏正大天晴药业有限公司, 以生理盐水 (即0.9% NaCl溶液) 稀释。猪甲状腺球蛋白 (porcine thyroglobulin, pTG)、不完全弗氏佐剂 (Freund's incomplete adjuvant, FIA)、完全弗氏佐剂 (complete Freund's adjuvant, CFA) 均购自美国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, TGA) 和甲状腺过氧化物酶抗体 (thyroid peroxidase antibody, TPOAb) 检测试剂盒均购自美国MP Biomedicals公司。干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-12 (interleukin-12, IL-12)、IL-4和IL-10检测试剂盒均购自上海酶联生物公司。MCP1抗体 (ab3827)、CCR2抗体 (ab34968)、核因子- $\kappa$ B亚基p65 (nuclear factor- $\kappa$ B, subunit p65, NF- $\kappa$ Bp65) 抗体 (ab194856), 以及辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG H&L (ab4091384) 和GAPDH抗体-Loading Control (ab33998) 均购自英国Abcam公司。

## 1.2 动物模型建立<sup>[6]</sup>

用 pH7.0 的磷酸盐缓冲液 (PBS) 将 pTG 配制成 2 mg/L 的溶液, 将该溶液与 CFA 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 FIA 与 pTG 溶液进行乳化, 采取与首次免疫相同的剂量和方式注射, 构建 EAT 大鼠模型。造模后大鼠 TGAAb 和 TPOAb 均明显升高, 说明造模成功。本实验经成都医学院第二附属医院实验动物福利伦理委员会批准 (IACUC-2019-082)。

## 1.3 动物分组及干预方法

将大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组和苦参素低剂量组、中剂量组及高剂量组 5 组, 每组 15 只。对照组在建立 EAT 大鼠模型免疫时给予等体积的 PBS 与 CFA; 低、中、高剂量组每只大鼠分别灌胃 0.2、0.4、0.6 g/kg 的苦参素, 灌胃体积 2 mL; 对照组和模型组均给予等体积的生理盐水, 隔日 1 次, 共 4 周。造模过程中, 模型组大鼠死亡 3 只, 苦参素低剂量组死亡 1 只, 苦参素中、高剂量组大鼠各死亡 2 只, 最终各组大鼠均取 12 只用于后续实验。实验结束时各组大鼠心脏采血, 离心收集血清,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存备用, 采用体积分数为 2% 的戊巴比妥钠麻醉各组大鼠<sup>[2]</sup>, 取甲状腺组织, 并置于体积分数为 10% 的中性甲醛溶液中固定。

## 1.4 甲状腺组织病理形态学检测

将固定保存的各组大鼠甲状腺组织依次进行脱水, 常规石蜡包埋, 切成 5  $\mu\text{m}$  的切片, HE 染色, 封固后光学显微镜下观察。

## 1.5 ELISA 法检测甲状腺功能、血清自身抗体和血清细胞因子

血清中 TSH、TGAAb、TPOAb 以及 IFN- $\gamma$ 、IL-12、IL-4、IL-10 水平, 均采用相应 ELISA 试剂盒, 参照试剂盒说明书进行测定。

## 1.6 免疫组织化学法检测甲状腺组织中 NF- $\kappa$ Bp65 的表达

取出经 10% 甲醛溶液固定的甲状腺组织, 经过脱水、透明、石蜡包埋、切片后, 常规脱蜡, 水化, 高压修复, 然后经一抗  $4^{\circ}\text{C}$  过夜孵育, 加稀释好的二抗, 室温孵育 30 min, PBS 洗涤。加适量 DAB 孵育 5 min, 苏木精对比染色 5 min, 无菌水冲洗后, 依次用不同浓度的梯度乙醇溶液脱水 2 h, 经二甲苯透明, 中性树胶封固。

每张切片随机选取 5 个高倍镜视野 ( $\times 200$ ), 在光镜下连续观察 10 个视野, 每个视野内计数 200 个细胞中的阳性细胞数, 根据染色强度和阳性细胞率综合评分。

## 1.7 蛋白质印迹法检测甲状腺组织中 MCP-1、CCR2 蛋白表达

采用美国 Invent 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, 用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白含量。制备蛋白样品, 并进行 SDS-PAGE, 电泳结束后, 转移至 PVDF 膜, 并用含有体积分数 5% 的 BSA 的封闭液室温封闭 2 h。加入适当稀释比例的 MCP-1 和 CCR2 一抗, 于  $4^{\circ}\text{C}$  反应过夜。次日用缓冲液清洗 PVDF 膜 3 次, 加入二抗, 室温孵育 1 h 后, 加入显色液, 曝光显影。

## 1.8 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件对数据进行统计分析, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 单因素方差分析用于多组间比较, 独立  $t$  检验用于两组间比较; 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; 使用 GraphPad Prism 5 软件制图,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

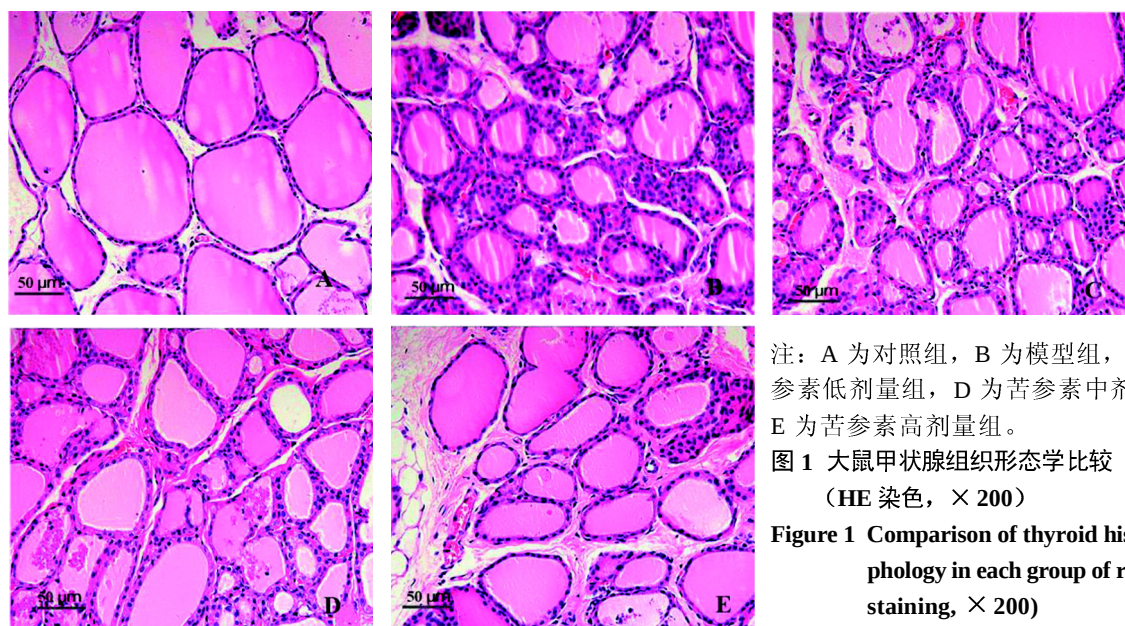
# 2 结果

## 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, 甲状腺滤泡分布均匀, 呈椭圆形或圆形的小叶状排列, 发育成熟, 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 (图 1A)。模型组甲状腺滤泡结构遭到不同程度破坏, 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以及水肿, 纤维组织增生 (图 1B)。低、中、高剂量组甲状腺滤泡结构较完整, 滤泡大小较一致, 上皮细胞排列趋于规则, 间质少量炎性细胞浸润, 水肿减轻, 且呈剂量依赖性 (图 1C、D、E)。

## 2.2 甲状腺功能和血清自身抗体水平

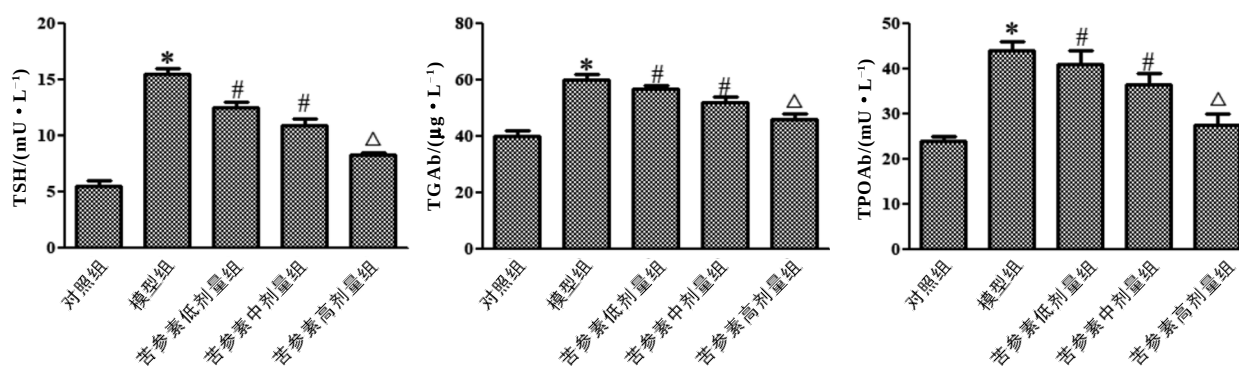
与对照组相比, 模型组中 TSH、TGAAb、TPOAb 水平均明显升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 低、中、高剂量组 TSH、TGAAb、TPOAb 水平均明显降低 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量依赖性 (图 2)。



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为苦参素低剂量组，D 为苦参素中剂量组，E 为苦参素高剂量组。

图 1 大鼠甲状腺组织形态学比较  
(HE 染色, × 200)

Figure 1 Comparison of thyroid histomorphology in each group of rats (HE staining, × 200)



注：TSH 为促甲状腺激素，TGAAb 为抗甲状腺球蛋白抗体，TPOAb 为甲状腺过氧化物酶抗体。与对照组比较，\* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ， $\Delta P < 0.01$ 。

图 2 ELISA 检测大鼠甲状腺功能和血清自身抗体水平

Figure 2 Thyroid function and serum autoantibody levels detected by ELISA in each group of rats

### 2.3 血清细胞因子水平

与对照组相比，模型组 IFN- $\gamma$ 、IL-12 水平及 IFN- $\gamma$ /IL-4、IL-12/IL-10 均明显升高 ( $P < 0.05$ )，IL-4、IL-10 水平均明显降低 ( $P < 0.05$ )；与模型组相比，低、中、高剂量组 IFN- $\gamma$ 、IL-12 水平及 IFN- $\gamma$ /IL-4、IL-12/IL-10 均明显降低 ( $P < 0.05$ )，IL-4、IL-10 水平均明显升高 ( $P < 0.05$ )，且呈剂量依赖性 (图 3)。

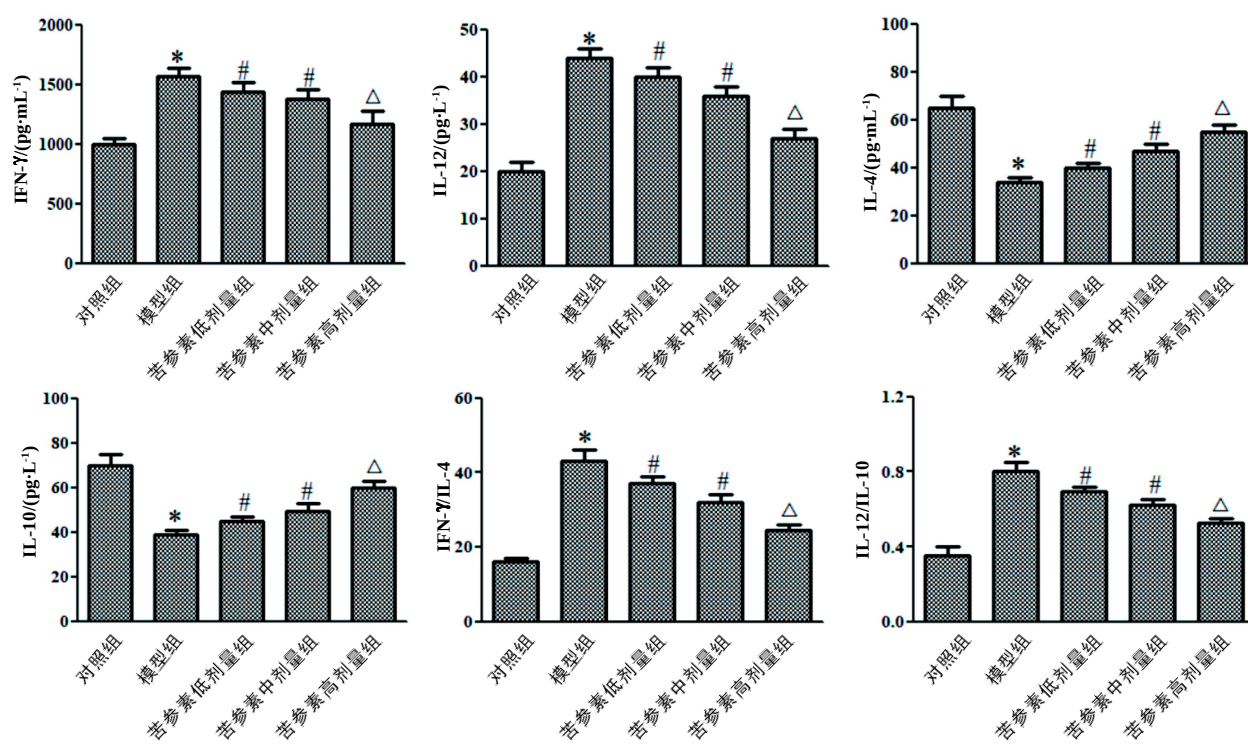
### 2.4 逐步线性回归分析

将 TSH 作为因变量，甲状腺抗体 (TGAAb、TPOAb) 和细胞因子 (IFN- $\gamma$ 、IL-12、IL-4 及 IL-10) 作为自变量。结果显示，抗体和细胞因子

均与 TSH 呈正相关性 ( $r^2$  分别为 0.786、0.696、0.875、0.855、0.685、0.596，均  $P < 0.001$ )。逐步回归方程决定系数 ( $R^2$ ) = 0.897,  $F = 176.495$ ,  $P < 0.001$ ，方程有统计学意义。其中，TGAAb、TPOAb、IL-10 与 TSH 有非常显著性关系，方程  $TSH = -3.485 + 0.203TGAAb + 0.115TPOAb + 0.037IL-10$  (均  $P < 0.001$ )。

### 2.5 甲状腺组织中 NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达

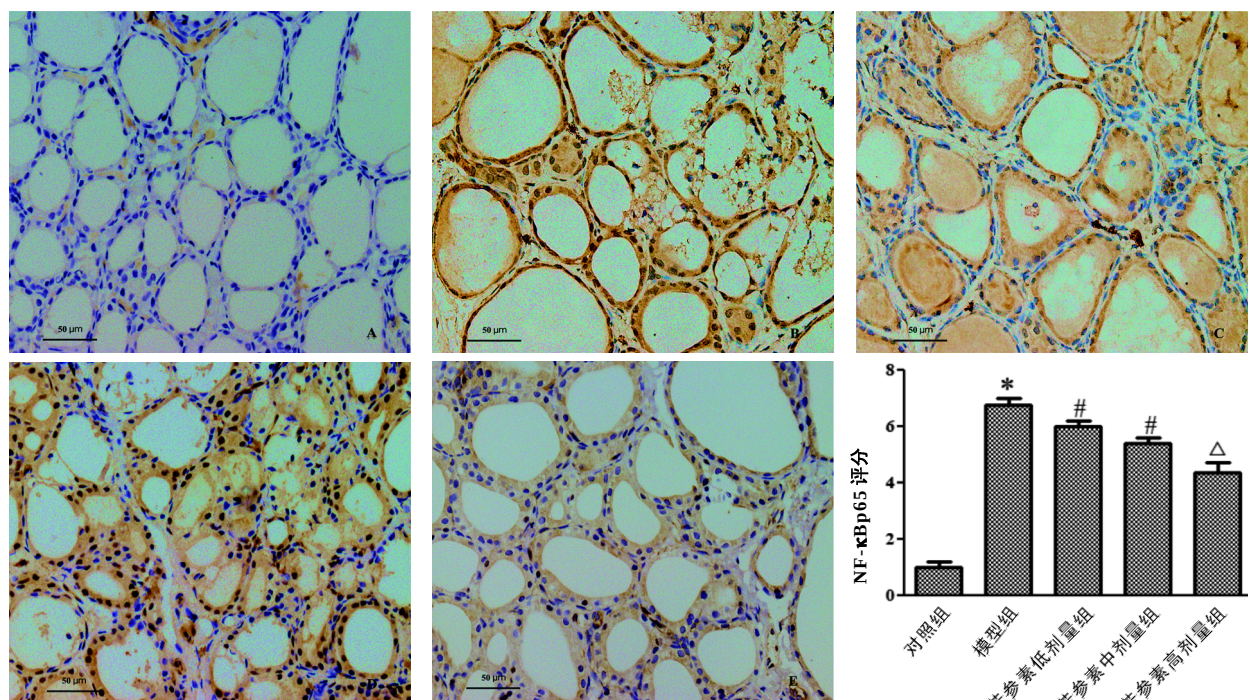
从图 4 可见，与对照组相比，模型组大鼠甲状腺组织中 NF- $\kappa$ Bp65 蛋白染色强度和阳性细胞率综合评分均明显升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较，低、中、高剂量组 NF- $\kappa$ Bp65 水平明显下降 ( $P < 0.05$ )，且呈剂量依赖性。



注: IFN-γ 为干扰素-γ, IL-12 为白细胞介素-12, IL-4 为白细胞介素-4, IL-10 为白细胞介素-10。与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ , Δ $P < 0.01$ 。

图3 ELISA检测大鼠血清细胞因子水平

Figure 3 Serum cytokine levels detected by ELISA in each group of rats



注: NF-κBp65 为核因子-κB 亚基 p65 抗体。A 为对照组, B 为模型组, C 为苦参素低剂量组, D 为苦参素中剂量组, E 为苦参素高剂量组。与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ , Δ $P < 0.01$ 。

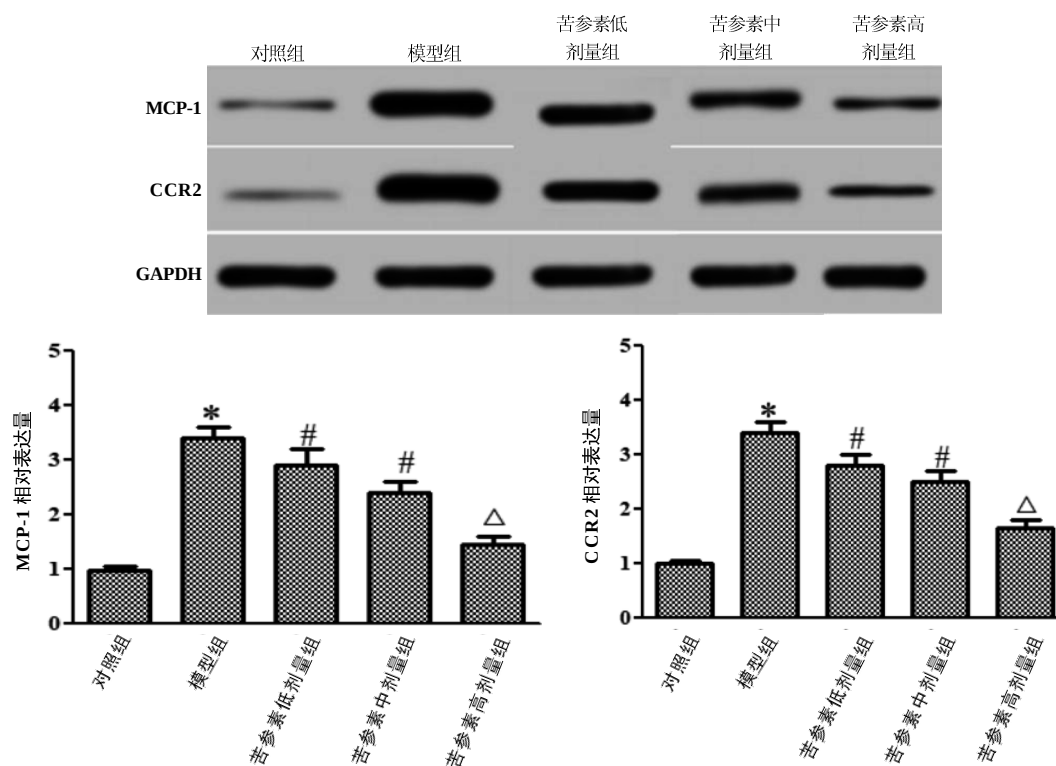
图4 免疫组织化学法检测大鼠甲状腺组织中 NF-κBp65 蛋白表达 (DAB, × 200) 及综合评分

Figure 4 NF-κBp65 protein expression detected by immunohistochemistry (DAB, × 200) in the thyroid tissues of rats in each group

## 2.6 甲状腺组织中 MCP-1、CCR2 蛋白水平

从图 5 可见, 与对照组相比, 模型组大鼠甲状腺组织中 MCP-1 和 CCR2 水平明显升高 ( $P <$

0.05)。与模型组比较, 低、中、高剂量组 MCP-1 和 CCR2 水平明显下降, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量依赖性。



注: MCP-1 为单核细胞趋化蛋白-1, CCR2 为细胞表面趋化因子受体 2。与对照组比较, \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较, # $P < 0.05$ , △ $P < 0.01$ 。

图 5 蛋白质印迹法检测各组大鼠甲状腺组织中 MCP-1、CCR2 蛋白水平

Figure 5 MCP-1 and CCR2 protein levels detected by Western blotting in thyroid tissues of rats in each group

## 3 讨论

AIT 是人类较为常见的一种特异性自身免疫性疾病。作为内分泌类疾病, AIT 也是造成儿童获得性甲状腺功能减低的重要原因之一, 其发病率仅次于甲状腺功能亢进症, 在甲状腺疾病中占比为 20% 左右<sup>[7]</sup>。AIT 发病机制尚不明确, 一般认为可能与遗传、环境或 T 淋巴细胞介导的免疫反应引起甲状腺滤泡的破坏有关<sup>[8]</sup>, 而西医临床尚无有效的治疗方案, 这也是该病亟需解决的问题。

祖国医学认为, AIT 属于“瘰病”范畴, 其发病与先天禀赋不足、情志内伤、饮食及水土失宜有关, 导致气血运行不畅, 气滞、血瘀、痰凝等壅结于颈前而引起病发。中医药在治疗 AIT 上已经取得一定的效果<sup>[9]</sup>。苦参属于祛风湿

类中药, 有祛风除湿、活血化瘀、消肿止痛等功效, 具有良好的抗炎、免疫调节、抗菌等活性; 苦参素作为苦参提取物, 在如系统性红斑狼疮、自身免疫性脑脊髓炎病等自身免疫性疾病的治疗中均取得了满意效果<sup>[10-11]</sup>, 但其在 AIT 的研究中报告较少。目前常将 EAT 动物模型作为研究 AIT 的重要工具。本实验通过免疫 pTG 诱导 Lewis 大鼠建立 EAT 动物模型发现, 给予苦参素治疗后, 大鼠甲状腺组织病理变化改善明显, 炎性细胞浸润程度减轻, 炎症分级降低, 血清中 TSH、TGAb 和 TPOAb 水平升高幅度下降, 且呈剂量依赖性, 证实苦参素可减轻 AIT, 对 EAT 模型大鼠发挥一定的保护作用。

Th1 和 Th2 细胞因子在机体处于正常状态下互相调节, 以保证细胞免疫和体液免疫维持正常功

能<sup>[12]</sup>。其中 Th1 通过分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-12、TNF- $\alpha$  等 Th1 型细胞因子介导细胞免疫。研究发现, IFN- $\gamma$ 、IL-12 作为促炎因子能够诱导 B 细胞分化、成熟, 促进 B 细胞记忆、抗体分泌<sup>[13]</sup>。而在 EAT 中上述炎性因子还可将 T 细胞募集到炎症部位以使甲状腺滤泡细胞的凋亡加速。Th2 细胞通过分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等 Th2 型抗炎细胞因子介导体液免疫, 抑制机体的免疫应答<sup>[14]</sup>。据报告, 甲状腺组织浸润的单核细胞和淋巴细胞内均有抗炎细胞因子的表达<sup>[15]</sup>, 但其表达水平随 EAT 免疫病程的进展逐渐下降。研究证实, 在实验性自身免疫脑脊髓炎、系统性红斑狼疮等以 Th1/Th2 类免疫失衡为主的器官特异性自身免疫疾病中, 苦参素可增强固有免疫反应, 在免疫系统的调节中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。本实验发现, 经苦参素治疗后, EAT 大鼠 IFN- $\gamma$ /IL-4 和 IL-12/IL-10 值明显降低, 提示苦参素干预可能通过下调 Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$ 、IL-12, 上调 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-10, 恢复 Th1/Th2 细胞免疫平衡状态, 以减轻 AIT。逐步回归分析结果显示, TSH 与甲状腺抗体 TGAb、TPOAb 和细胞因子 IFN- $\gamma$ 、IL-12、IL-4 及 IL-10 均呈正相关, 说明苦参素可通过调节 EAT 大鼠的免疫反应保护其甲状腺功能。

研究发现, MCP-1/CCR2 信号通路能够趋化巨噬细胞、单核细胞、杀伤 T 淋巴细胞等多种炎症反应相关的细胞, 从而参与免疫调节作用<sup>[17]</sup>。MCP-1 可由成纤维细胞及单核巨噬细胞等间质细胞分泌, 对于 T 淋巴细胞具有较强的趋化作用; 而 CCR2 广泛表达于自然杀伤细胞、内皮细胞等单核细胞上, 是 G 蛋白的偶联受体。文献报告称, MCP-1 在 AIT 患者甲状腺滤泡上皮细胞中明显高于正常水平<sup>[18]</sup>。另有研究发现, 与结节性甲状腺肿患者相比, 手术切除的 AIT 患者甲状腺组织经过免疫组化检测发现 CCR2 的表达水平明显升高<sup>[19]</sup>。转录因子 NF- $\kappa$ B 作为 MCP-1/CCR2 信号通路下游启动炎性因子的靶因子, 正常情况下以 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白激酶复合体的形式存在; 在组织损伤诱发炎症反应时, NF- $\kappa$ B 在酶的作用下发生解离, 导致促炎性因子大量表达<sup>[20]</sup>。本实验结果显示, 经苦参素治疗后, MCP-1、CCR2 和 NF-

$\kappa$ Bp65 蛋白水平明显下降, 提示苦参素可通过下调 MCP-1/CCR2 信号通路及下游 NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达, 有效减轻炎症反应细胞的聚集, 发挥对 EAT 的治疗作用。

综上所述, 苦参素能抑制甲状腺抗体生成, 下调 Th1 型细胞因子, 上调 Th2 型细胞因子, 进而降低 Th1/Th2 值, 并抑制 MCP-1/CCR2 信号轴, 发挥对 EAT 的保护作用。

#### 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结合研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2018, 28(4):335-338. DOI:10.3969/j.issn.1005-4561.2018.04.032.
- [2] RUGGERI R M, 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. DOI:10.1530/eje-16-0737.
- [3] 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. DOI:10.1007/s12020-018-1532-5.
- [4] 陈俊先, 李作孝. 苦参素对实验性自身免疫脑脊髓炎大鼠的干预效果及其机制[J]. 广西医学, 2018, 40(3):306-308. DOI:10.11675/j.issn.0253-4304.2018.03.20.
- [5] MARENGO B, SPECIALE A, SENATORE L, et al. Matrine in association with FD-2 stimulates F508del-cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activity in the presence of corrector VX809[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(6):8849-8853. DOI:10.3892/mmr.2017.7736.
- [6] LIU H, TIAN Q, AI X, et al. Dihydroartemisinin attenuates autoimmune thyroiditis by inhibiting the CXCR3/PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(70):115028-115040. DOI:10.18632/oncotarget.22854.
- [7] 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. DOI:10.1097/md.00000000000015185.
- [8] CHOI Y M, KIM T Y, KIM E Y, et al. Association between thyroid autoimmunity and *Helicobacter pylori* infection[J]. Korean J Intern Med, 2017, 32(2):309-313. DOI:10.3904/kjim.2014.369.
- [9] 郑传铭, 李清林, 骆虹. 中医药在桥本甲状腺炎防治中的作用研究进展[J]. 中国医学创新, 2016, 13(17):136-138. DOI:10.3969/j.issn.1674-4985.2016.17.039.

- [10] 李自军, 刘文刚. 复方苦参汤对急性髓系白血病患者免疫调节机制[J]. 中医学报, 2019, 34(3):590-594. DOI: 10.16368/j.issn.1674-8999.2019.03.139.
- [11] 巴燕·艾克海提, 韩玲, 古洁乃特. 健脾滋肾汤治疗系统性红斑狼疮对患者血清炎症因子、凝血功能及免疫功能的影响[J]. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(4):449-452.
- [12] 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. DOI:10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.000197.
- [13] MARTINENAITE E, AHMAD S M, BENDTSEN S K, et al. Arginase-1-based vaccination against the tumor microenvironment: the identification of an optimal T-cell epitope[J]. Cancer Immunol Immunother, 2019, 68(11): 1901-1907. DOI:10.1007/s00262-019-02425-6.
- [14] CHEN Y F, ZHENG J J, 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. DOI:10.1080/21691401.2019.1577877.
- [15] 吴可人, 叶志鹏, 金法, 等. 大黄素对实验性自身免疫性甲状腺炎小鼠辅助型 T 细胞亚群的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(6):633-639.
- [16] LIU P, ZHU L, ZOU G, et al. Matrine suppresses pancreatic fibrosis by regulating TGF- $\beta$ /smad signaling in rats[J]. Yonsei Med J, 2019, 60(1):79-87. DOI:10.3349/ymj.2019.60.1.79.
- [17] XU L, SHARKEY D, CANTLEY L G. Tubular GM-CSF promotes late MCP-1/CCR2-mediated fibrosis and inflammation after ischemia/reperfusion injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2019, 30(10):1825-1840. DOI:10.1681/asn.2019010068.
- [18] 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. DOI:10.16016/j.1000-5404.201611184.
- [19] 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. DOI:10.1007/s10549-018-4760-8.
- [20] 王先海, 李珍斌, 李小妹, 等. 通经定晕丸阻断颈椎病大鼠 NF- $\kappa$ B 激活 MCP-1/CCR2 通路及 TNF- $\alpha$  及 IL-1 $\beta$ 、IL-6 表达的研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2018, 23(4):370-376. DOI:10.12092/j.issn.1009-2501.2018.04.002.
- (收稿日期: 2020-06-23 修回日期: 2020-11-16)

\*\*\*\*\*

(上接第 219 页)

#### 参考文献:

- [1] 杨颖, 陈黎, 卢立志. 松果体调控动物季节性繁殖概述[J]. 农业生物技术学报, 2017, 25(7):1086-1101. DOI:10.3969/j.issn.1674-7968.2017.07.006.
- [2] 汪秀衡, 刘垚, 吴洁, 等. 褪黑素对昼夜节律和脂质代谢的影响[J]. 基础医学与临床, 2020, 40(6):838-841. DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2020.06.023.
- [3] 王国卿, 童建. 松果体昼夜节律生物钟分子机制的研究进展[J]. 生理科学进展, 2004, 35(3):210-214. DOI:CNKI: SUN:SLKZ.0.2004-03-004.
- [4] 卞宏生. 昼夜节律对大鼠的睡眠模式和能量代谢的影响及褪黑素的干预作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- [5] PEREIRA N, NAUFEL M F, RIBEIRO E B, et al. Influence of dietary sources of melatonin on sleep quality: a review[J]. J Food Sci, 2020, 85(1):5-13. DOI:10.1111/1750-3841.14952.
- [6] 朱俊德, 龚明. 老年大鼠松果体中褪黑素含量的测定[J]. 四川解剖学杂志, 2006(4):21-23. DOI:10.3969/j.issn.1005-1457.2006.04.006.
- [7] 冯星. 新生大鼠缺氧缺血性脑损伤对松果体功能的影响及外源性褪黑素的神经保护作用研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2009. DOI:10.7666/d.y1639242.
- [8] 梁欣. 艾灸对 D- 半乳糖致衰老大鼠松果体氧化损伤影响的实验研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2008. DOI: 10.7666/d.d166244.
- [9] 肖成荣, 马增春, 李海静, 等. PCPA 失眠大鼠模型的制作及其机制[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4):326. DOI:10.16421/j.cnki.1002-3127.2007.04.060.
- [10] 魏晓霞. 经皮电刺激与睡眠关系的研究[D]. 西安: 西安电子科技大学, 2014. DOI:10.7666/d.D727403.
- [11] 孙秀萍, 王琼, 石哲, 等. 动物行为实验方法学研究的回顾与展望[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(3):1-7. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.03.001.
- [12] 林晓春, 李云鹏, 卞艳芳, 等. 大鼠旷场实验指标检测及参考值的探讨[J]. 毒理学杂志, 2010, 24(3):224-225. DOI: 10.16421/j.cnki.1002-3127.2010.03.020.
- [13] 宗绍波, 魏盛, 苏云祥, 等. 焦虑大鼠模型高架十字迷宫实验的复测信度检验及参数相关性分析[J]. 中国医药导报, 2011, 8(30):5-7. DOI:10.3969/j.issn.1673-7210.2011.30.003.
- [14] KLEIN D C. Arylalkylamine N-acetyltransferase: "the Timezyme"[J]. J Biol Chem, 2007, 282(7):4233-4237. DOI:10.1074/jbc.R600036200.
- (收稿日期: 2020-09-30 修回日期: 2020-12-24)