

潘雅婧,张秋娥,张程斐,等. 甲炎康泰颗粒剂对自身免疫性甲状腺炎大鼠免疫相关细胞因子的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(1): 77-83.

Pan YJ, Zhang QE, Zhang CF, et al. Effects of JiaYanKangTai granules on immune-associated cytokines in rats with autoimmune thyroiditis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(1): 77-83.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.01.010

甲炎康泰颗粒剂对自身免疫性甲状腺炎大鼠 免疫相关细胞因子的影响

潘雅婧^{1,2}, 张秋娥^{2,3}, 张程斐², 吴丽丽², 秦灵灵², 胡凯文^{1*}, 刘铜华^{2*}

(1. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078; 2. 北京中医药大学中医养生学北京市重点实验室, 北京 100029;
3. 陕西中医药大学第一临床医学院, 西安 711301)

【摘要】 目的 检测甲炎康泰颗粒剂对自身免疫性甲状腺炎大鼠免疫相关细胞因子的影响, 探讨甲炎康泰颗粒剂改善自身免疫性甲状腺炎的作用机制。**方法** 30 只雌性 Lewis 大鼠随机选取正常组 10 只, 其余 20 只采用皮下注射甲状腺球蛋白结合口服碘水造模共 7 周。造模成功大鼠随机分为模型组 10 只、给药组 10 只。甲炎康泰颗粒剂连续干预 8 周后, ELISA 法检测甲状腺抗体水平; HE 染色观察甲状腺病理改变; qPCR 法检测靶点因子基因表达; 抗体芯片法检测靶点蛋白表达并绘制聚类热图。**结果** 模型组 TPOAb、TGAb 较正常组显著升高, 给药组 TPOAb、TGAb 较模型组显著降低。模型组甲状腺滤泡细胞破坏、大量淋巴细胞浸润, 给药组甲状腺病理改变较模型组缓解。模型组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、CCL3、CX3CL1 基因表达量较正常组升高, 给药组 IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、CCL3、CX3CL1 较模型组降低。各组间细胞因子聚类较好, 模型组 IL-17、CCL3、CX3CL1 蛋白表达量较正常组升高, 给药组 IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、CCL3、CX3CL1 较模型组降低。**结论** 甲炎康泰颗粒剂可调节免疫相关细胞因子而减轻自身免疫性甲状腺炎大鼠甲状腺损伤。

【关键词】 甲炎康泰; 自身免疫性甲状腺炎; 细胞因子

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022) 01-0077-07

Effects of JiaYanKangTai granules on immune-associated cytokines in rats with autoimmune thyroiditis

PAN Yajing^{1,2}, ZHANG Qiue^{2,3}, ZHANG Chengfei², WU Lili², QIN Lingling², HU Kaiwen^{1*}, LIU Tonghua^{2*}

(1. DongFang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China. 2. Key Laboratory of Health Cultivation of Beijing, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029. 3. the First School of Clinical Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 711301)

Corresponding author: LIU Tonghua. E-mail: thliu@vip.163.com; HU Kaiwen. E-mail: kaiwenh@163.com

【Abstract】 Objective This study aimed to investigate the effects of JiaYanKangTai granules on immune-associated cytokines in rats with autoimmune thyroiditis, and the mechanisms for treating autoimmune thyroiditis. **Methods** 30 Lewis rats were randomly assigned into the control group (CON, $n=10$) and the induced group ($n=20$). The induced rats were then randomly divided into the model group (EAT, $n=10$) and the administrative group (JYKT, $n=10$) after immunization by subcutaneous injections of thyroglobulin and drinking iodine-containing water for 7 weeks. Rats of the

【基金项目】 国家重大科技项目计划(2020AA005), 中医养生学北京市重点实验室(BZ0259)。

Funded by National Science and Technology Project(2020AA005), Key Laboratory of Health Cultivation of Beijing(BZ0259)。

【作者简介】 潘雅婧(1989—), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向: 中西医结合防治内分泌代谢病和肿瘤研究。Email: panyajing@bucm.edu.cn

【通信作者】 刘铜华(1963—), 男, 教授、主任医师, 博士, 研究方向: 中医药防治内分泌代谢病临床和基础研究。Email: thliu@vip.163.com

胡凯文(1964—), 男, 教授、主任医师, 博士, 研究方向: 中西医结合防治肿瘤等病研究。Email: kaiwenh@163.com

* 共同通信作者

JYKT group were administrated JiaYanKangTai granules for 8 weeks. The expression levels of anti-thyroperoxidase (TPOAb) and anti-thyroglobulin (TGAb) were detected. Pathological changes of the thyroid were observed. Gene and protein expression levels of multiple cytokines were detected by qPCR and antibody arrays, respectively. Differentially-expressed cytokines were analyzed and cluster heatmapping was performed. **Results** Expression levels of TPOAb and TGAb were significantly higher in the EAT group than those in the CON group. Pathological changes to the thyroid were alleviated in the JYKT group compared with those in the EAT group. Gene expression levels of chemokine C-C Motif Chemokine Ligand 3 (CCL3), C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1), interleukin-17 (IL-17), interferon- γ (IFN- γ) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were significantly higher in the EAT group than those in the CON group. Gene expression levels of CCL3, CX3CL1, IL-4, IL-17, IFN- γ and TNF- α were significantly lower in the JYKT group than those in the EAT group. Differential-expressed cytokines were well-clustered. Protein expression levels of CCL3, CX3CL1 and IL-17 were significantly higher in the EAT group than those in the CON group. Protein expression levels of CCL3, CX3CL1, IL-4, IFN- γ and TNF- α were significantly lower in the JYKT group than those in the EAT group. **Conclusions** JiaYanKangTai granules alleviated damage of the thyroid in autoimmune thyroiditis by regulating immune-related cytokines.

【Keywords】 JiaYanKangTai granules; autoimmune thyroiditis; cytokine

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

自身免疫性甲状腺疾病是临床常见的一类器官特异性自身免疫性疾病,主要包括桥本氏甲状腺炎、Graves'病等^[1-2],发病与遗传易感性、环境因素、情绪压力等因素相关,发病率因年龄、性别、种族、地域而异^[3-4]。流行病学调查显示,自身免疫性甲状腺疾病在女性人群发病率为 5% ~ 15%,在男性人群发病率 1% ~ 5%,且遗传率较高(55% ~ 75%)^[4]。自身免疫性甲状腺疾病是临床甲状腺功能异常主要原因,对包括甲状腺在内的全身多器官和系统造成损害,影响患者生活质量。现代医学以对症治疗为主,包括饮食管控、甲状腺素替代治疗、糖皮质激素或免疫调节剂治疗和外科手术等^[5-6]。在缓解症状、改善生活质量等方面仍缺乏有针对性的、安全有效的药物,中医药治疗在降低抗体滴度、改善临床症状、缓解甲状腺肿大、缩短病程等方面有独特优势^[7]。

甲炎康泰为北京中医药大学东方医院院内制剂,已获国家专利(专利号 ZL 201610642433.6),由柴胡、郁金、夏枯草、穿山龙、浙贝母、玄参、山慈菇、黄芪、乌梅九味中药组成,具有疏肝解郁、化痰祛瘀、软坚散结之效^[8-9]。甲炎康泰治疗甲状腺疾病临床疗效明确,对患者急躁、易怒、乏力、心悸等症状改善明显,组方中药活性成分多、作用靶点广泛,作用机制值得深入研究。本研究在课题组前期基础上,结合高特异性、高通量的抗体芯片技术,检测甲炎康泰颗粒剂对实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠(experimental autoimmune thyroiditis, EAT)免疫相关细胞因子的影响,补充甲炎康泰改善自身免疫性甲状腺炎作用机制,为其临床应用提供实验证据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

30 只 5 周龄 SPF 级雌性 Lewis 大鼠,体重约 150 g,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司【SCXK(京)2016-0006】。大鼠饲养于北京中医药大学实验动物中心 SPF 级动物房【SYXK(京)2020-0033】。饲养环境:温度(22 ± 3)℃、相对湿度 55% ± 10%,12 h 光照/12 h 黑暗交替循环。本实验严格执行中华人民共和国国家标准 GB14925-2001 并通过北京中医药大学动物实验伦理委员会审查批准(BUCM-4-202922901-4148)。

1.1.2 主要试剂与仪器

甲状腺球蛋白(美国 Sigma, T1126-1G)、完全弗氏佐剂(美国 Sigma, F5881)、不完全弗氏全佐剂(美国 Sigma, F5506)、碘化钠(上海源叶生物, S30233)、甲状腺球蛋白 ELISA 试剂盒(武汉华美生物, CSB-E11199r)、HiScript III RT SuperMix(南京诺唯赞生物, R323-01)、Taq Pro Universal SYBR Qpcr Master Mix(南京诺唯赞生物, Q712-02)、大鼠抗体芯片试剂盒(美国 Raybiotech, QAR-CYT-3、QAR-CYT-4)、甲炎康泰颗粒剂(北京康仁堂药业,批号: DRUG-N202103171200585990)。

光学显微镜(Olympus, BX53, 日本)、酶标仪-多功能检测系统(Promega, GloMax-Multi, 美国)、电子天平(Mettler-Toledo, ML54/02, 中国)、离心机(Sigma, 3K15, 德国)、实时荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems, 7500 Real time PCR System, 美

国),芯片扫描仪(Innopsys,InnoScan 300,法国)。

1.2 方法

1.2.1 造模、分组及给药

大鼠适应性喂养 1 周后,按体重随机分为正常组 10 只、造模组 20 只。正常组大鼠自由摄食饮水。造模组大鼠饮用含碘水(含碘化钠 0.064%),第 3 周初次免疫,以完全弗式佐剂 1:1 乳化甲状腺球蛋白(终浓度 0.05%),在大鼠颈后部、左右下腹部皮下注射混合乳化剂每只 0.2 mL,间隔 2 d 先后注射 2 次。第 4 ~ 7 周强化免疫,以不完全弗式佐剂 1:1 乳化甲状腺球蛋白(终浓度 0.05%),在相同部位皮下注射混合乳化剂每只 0.2 mL,每周 1 次,共 4 次。

第 7 周末,检测血清甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulin antibody, TGAAb)水平,鉴定是否成模。将造模成功大鼠按抗体水平随机分为模型组和给药组。给药组灌胃胃炎康泰溶液,灌胃剂量 2.834 g/(kg·d)(参照人和动物体表面积等效剂量换算,并结合本课题组前期多次实验确定^[10-11]),每日 1 次;正常组和模型组用等容量去离子水灌胃,灌胃容量 10 mL/kg,每日 1 次,连续给药 8 周。

1.2.2 甲状腺抗体水平检测

大鼠采用 2%戊巴比妥钠(40 mg/kg 体重)麻醉后经腹主动脉取血,3000 rpm 离心 10 min 后分离上层血清。ELISA 法检测血清 TPOAb、TGAAb 水平:在已包被的酶标板每孔加入生物素标志物反应液 50 μ L,再分别在标准品孔、样品孔中依次分别加入标准品 S₁ ~ S₆、待测血清样品 50 μ L,37℃ 孵育 1 h 后充分洗涤;在每孔加入辣根过氧化物酶标记亲和素反应液 50 μ L,37℃ 孵育 30 min 后充分洗涤;在每孔加入发光底物 A 和发光底物 B 各 50 μ L,37℃ 避光孵育 15 min 后,在每孔加入反应终止液 50 μ L。酶标仪测定光度值(OD₄₅₀),用标准品绘制标准曲线,并计算各血清样品浓度。

1.2.3 甲状腺形态观察

每组各取 3 只大鼠,采用 2%戊巴比妥钠(40 mg/kg 体重)麻醉后沿腹中线向上,剖开胸腔,小心剥离心包膜及周围组织,充分暴露心脏通过心脏灌注固定:注射针头沿心尖插入升主动脉方向,剪开右心耳,依次向大鼠体内注入足量生理盐水、4%多聚甲醛。固定后于冰上快速剥取大鼠甲状腺,置于

4%多聚甲醛溶液,制作石蜡切片,HE 染色,显微镜下观察甲状腺形态改变。

1.2.4 靶点基因表达水平检测

实时荧光定量检测白介素 4(interleukin-4, IL-4)、干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 17(interleukin-17, IL-17)、趋化因子 CC 亚群配体 3(C-C motif chemokine ligand 3, CCL3)、趋化因子 CX3C 亚群配体 1(C-X3-C motif chemokine ligand 1, CX3CL1) 基因表达。TRIzol 法提取大鼠甲状腺 RNA:向甲状腺组织加入适量 TRIzol, 12 000 rpm 4℃ 离心 5 min 取上清,加氯仿震荡,离心后取上清,加异丙醇沉淀 RNA,离心后取上清,加无水乙醇洗脱,得到 RNA 沉淀。使用 HiScript III RT SuperMix 试剂盒配制反转录体系,反应条件为:42℃ 2 min 去除 DNA;37℃ 15 min→85℃ 5 s,冷却后得到 cDNA。使用 Taq Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行 qPCR 扩增,反应条件为:95℃ 30 s 预变性;95℃ 10 s→60℃ 30 s,40 循环;95℃ 15 s→60℃ 60 s→95℃ 15 s 检测融解曲线。待测基因相对表达量以 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 表示。(待测基因上下游引物序列如表 1 所示)。

表 1 待测基因上下游引物序列

Table 1 Forward and reverse primers of target genes	
基因名称 Genes	上下游序列 Forward and reverse primers
IL-4	F:5'-TGATGTACCTCCGTGCTTGA-3' R:5'-TTCCTCGTAGGATGCTTTT-3'
IFN- γ	F:5'-AGCCAGTACAGAGCGAAGA-3' R:5'-GCCTGAGCCAGAAACCT-3'
TNF- α	F:5'-CTCATTCTGCTCGTGG-3' R:5'-CTCCGCTTGGTGTTT-3'
IL-17F	F:5'-TCCCTCCGAAGGACCAG-3' R:5'-GACACTCAGGCTGTATCAACG-3'
CCL3	F:5'-GCTGCCCTTGCTGTTCTTCT-3' R:5'-CAAAGGCTGCTGGTCTCAAA-3'
CX3CL1	F:5'-TGTTTATCACTCCTGTCCTG-3' R:5'-GCCTTCCACCATCTCCC-3'
GAPDH	F:5'-CTCTGCTCCTCCTCTGTC-3' R:5'-CGATACGGCCAAATCC-3'

1.2.5 靶点蛋白表达水平检测

采用抗体芯片检测蛋白表达水平:试剂盒室温平衡 30 min,抗体芯片超净台中干燥 2 h。按试剂盒说明书梯度稀释混合细胞因子标准品。向芯片每孔加入 100 μ L 封闭液,室温摇床封闭 1 h。向每孔加入 60 μ L 标准液或待测样品,4℃ 摇床孵育过夜。次日洗板,每孔加入 150 μ L 洗液 I 清洗每次 5 min、

进行 5 次;再加入 150 μL 洗液 II 清洗每次 5 min、进行 5 次。洗净后向每孔加入 80 μL 混合细胞因子抗体,室温摇床孵育 2 h。再次分别用洗液 I、洗液 II 洗板。洗净后向每孔加入 80 μL Cy3-链霉亲和素,室温避光摇床孵育 1 h。再次先后用洗液 I、洗液 II 充分洗涤并干燥芯片。采用芯片扫描仪扫描,扫描波长 532 nm,分辨率 10 μm 。通过 Raybiotech 软件提取数据,计算各细胞因子相对表达量并绘制聚类热图。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 (中文版) 软件进行数据统计。符合正态分布的定量资料以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 形式示出,多组资料之间比较采用单因素方差分析;非正态分布的定量资料和计数资料采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为组间差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 甲状腺抗体水平

如表 2 所示,模型组大鼠血清 TPOAb、TGAb 抗体表达量较正常组显著升高 ($P < 0.01$);给药组大鼠血清 TPOAb、TGAb 抗体表达量较模型组显著降低 ($P < 0.05$)。

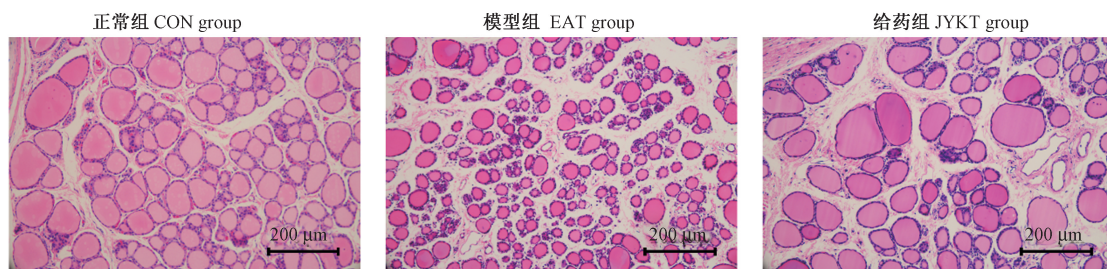


图 1 大鼠甲状腺形态

Figure 1 Morphology of thyroids of rats

2.4 靶点蛋白水平和聚类分析

如图 3 所示,对以上细胞因子绘制聚类热图,正常组与模型组、给药组两两之间细胞因子差异显著,聚类较好。如图 4 所示,模型组 IL-17、CCL3、CX3CL1 蛋白表达量较正常组显著升高 ($P < 0.01$);给药组 IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、CCL3、CX3CL1 蛋白表达量较模型组显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3 讨论

在中医药理论中,自身免疫性甲状腺疾病属于“瘰癧”“瘰癧”范畴,病位主要在颈前甲状腺,与肝、脾密切相关,基本病机为气滞、血瘀、痰凝壅结颈

表 2 大鼠血清 TPOAb、TGAb 抗体水平

Table 2 Expressions of serum TPOAb and TGAb		
组别 Groups	TPOAb (IU/mL)	TGAb (IU/mL)
正常组 CON group	26.186 $\pm$ 2.563	13.456 $\pm$ 0.597
模型组 EAT group	248.872 $\pm$ 45.638**	76.540 $\pm$ 10.495**
给药组 JYKT group	186.585 $\pm$ 30.360 [#]	63.089 $\pm$ 3.577 [#]

注:与正常组比,** $P < 0.01$;模型组比,[#] $P < 0.05$ 。(下同)

Note. Compared with CON group,** $P < 0.01$. Compared with EAT group,[#] $P < 0.05$. (The same in the following figures)

2.2 甲状腺形态变化

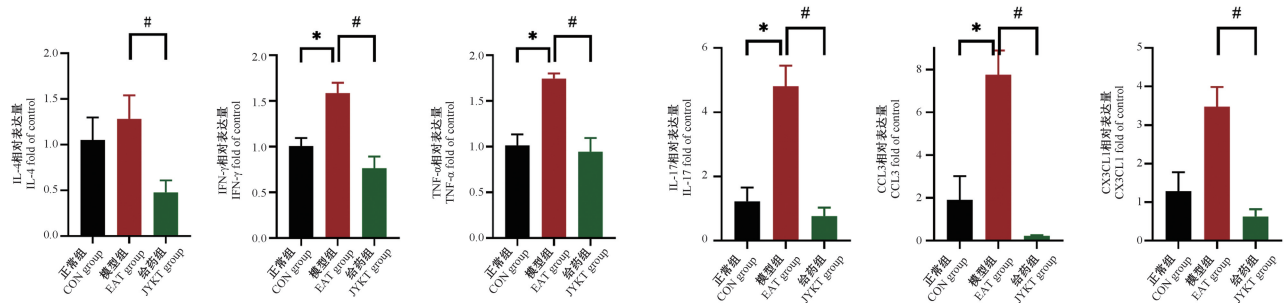
如图 1 所示,正常组大鼠甲状腺滤泡结构正常,滤泡腔内红色胶质饱满、分布均匀,滤泡上皮细胞排列紧密。与正常组相比,模型组大鼠甲状腺滤泡细胞结构存在不同程度破坏,滤泡上皮细胞排列不紧密,滤泡体积变小、数量增多、滤泡腔皱缩,腔内胶质减少,滤泡间质存在大量淋巴细胞浸润。与模型组相比,给药组大鼠甲状腺滤泡细胞结构破坏程度较轻,滤泡腔皱缩、胶质减少、滤泡间质淋巴细胞浸润等情况有所缓解。

2.3 靶点基因水平

如图 2 所示,模型组 IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、CCL3、CX3CL1 基因相对表达量较正常组显著升高 ($P < 0.05$);给药组 IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、CCL3、CX3CL1 基因表达量较模型组显著降低 ($P < 0.05$)。

前。其发病与情志内伤密切相关。长期郁怒忧思、情志不遂,导致肝气郁结,或痰湿凝聚,或气滞血瘀,或气郁化火,发为瘰癧^[12]。中医药在治疗瘰癧方面历史悠久,经验丰富,是单独使用中药治疗有效的优势病种,在降低抗体水平、改善不适症状、缩短病程等方面有一定优势。其中,疏肝解郁、化痰祛瘀、软坚散结是治疗瘰癧重要方法。

甲炎康泰是刘铜华教授总结多年临床诊疗经验提出的治疗甲状腺疾病经验方,为北京中医药大学东方医院院内制剂,广泛用于肝郁气滞、痰凝血瘀型甲状腺疾病的治疗。方中柴胡、郁金为君药,共奏疏肝解郁之效;夏枯草、穿山龙为臣药,共助君

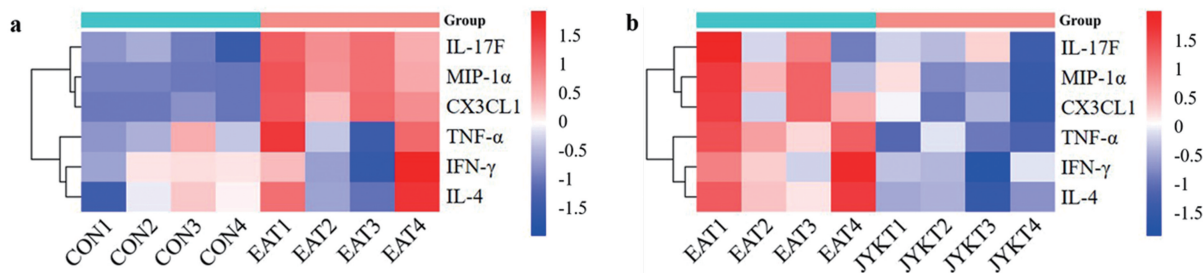


注:与正常组比,* $P < 0.05$;与模型组比,# $P < 0.05$ 。

图 2 大鼠 IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、CCL3、CX3CL1 基因相对表达量

Note. Compared with CON group, * $P < 0.05$. Compared with EAT group, # $P < 0.05$.

Figure 2 Gene expressions of IL-4, IFN- γ , TNF- α , IL-17, CCL3 and CX3CL1

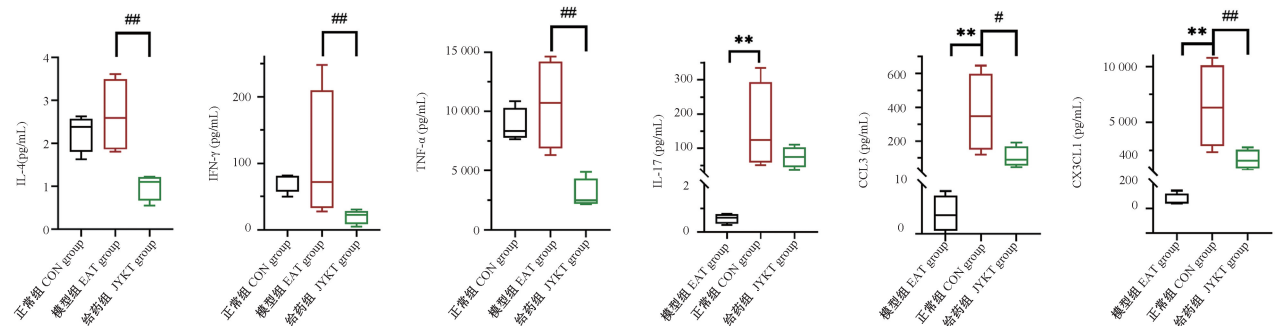


注:CON:正常组;EAT:模型组;JYKT:给药组。

图 3 大鼠差异表达细胞因子热图

Note. CON. The control group. EAT. The model group of experimental autoimmune thyroiditis. JYKT. The administrative group by JiaYanKangTai granules.

Figure 3 Clustering heatmaps of differential-expressed cytokines



注:与正常组比,** $P < 0.01$;与模型组比,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图 4 大鼠 IL-4、IFN- γ 、TNF- α 、IL-17、CCL3、CX3CL1 表达量

Note. Compared with CON group, ** $P < 0.01$. Compared with EAT group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.

Figure 4 Expressions of IL-4, IFN- γ , TNF- α , IL-17, CCL3 and CX3CL1

药以清肝散结、化痰通络;浙贝母、玄参、山慈菇、黄芪为佐药,一则清热解毒、化痰除湿、软坚散结,一则补脾益气,祛邪而不伤正;乌梅为使药,收敛生津,以防诸药苦寒伤阴。诸药相合,从肝论治,共奏疏肝解郁、化痰祛瘀、软坚散结之功。临床试验证实甲炎康泰治疗桥本氏甲状腺炎证属肝郁气滞、痰凝血瘀者,可显著改善急躁易怒、神疲乏力、太息心

悸等症,降低抗体水平,缓解甲状腺肿大^[8-9,13]。

自身免疫性甲状腺炎发生时,T、B 淋巴细胞、巨噬细胞、浆细胞等浸润甲状腺,诱发免疫紊乱。本实验采用甲状腺球蛋白免疫佐剂联合口服碘剂诱导作为体内模型,该模型是研究自身免疫性甲状腺炎的经典模型,通过外源性甲状腺球蛋白触发大鼠产生免疫反应,通过免疫佐剂打破免疫耐受稳态,

较好地模拟了甲状腺肿大、甲状腺滤泡破坏及功能障碍、淋巴细胞浸润等病理特点,具有可重复性好、成模率高等优势^[7,14]。在此模型上发现甲炎康泰颗粒剂(2.834 g/(kg·d))可降低甲状腺抗体水平,缓解甲状腺滤泡结构破坏、胶质减少、淋巴细胞浸润等病理改变,从而减轻自身免疫性甲状腺炎甲状腺损伤。

研究证实自身免疫性甲状腺疾病存在淋巴细胞免疫紊乱和功能障碍,当甲状腺炎发生时,B 淋巴细胞产生大量抗甲状腺抗体,产生细胞毒作用,造成甲状腺损害,Th1、Th2、Th17 等大量淋巴细胞浸润并破坏甲状腺正常结构,分泌 IL-1 β 、IL-4、IFN- γ 、IL-17 等多种效应因子进一步放大免疫效应,导致免疫紊乱,加剧甲状腺结构和功能的破坏^[15]。促炎性因子 IFN- γ 和 IL-4 分别是诱导 Th1、Th2 细胞介导免疫应答的关键指示信号,并可调控 TNF- α 、IFN- γ 、IL-6、PGE2 等炎症因子释放,诱导淋巴细胞浸润甲状腺,并放大免疫反应效应^[16-18]。IL-17 是 Th17 细胞效应因子,可招募中性粒细胞,刺激多种促炎性因子分泌,加速自身免疫性甲状腺炎进展^[19]。很多趋化因子与自身免疫性甲状腺疾病相关,CCL3 与甲状腺免疫密切相关,可反映甲状腺免疫紊乱早期病变^[20],CX3CL1 是唯一一种细胞内化的趋化因子,甲状腺激素可通过驱动整合素 $\alpha\text{v}\beta 3$ 内化而调节 CX3CL1 及其受体 CX3CR1 表达,诱导白细胞趋化和黏附,诱导 CD8+ 淋巴细胞、NK 细胞迁移和黏附,导致甲状腺免疫紊乱^[21-22]。本实验结合抗体芯片检测技术同时检测多种细胞因子,该技术具有灵敏性高、特异性强、准确性好等优势,在自身免疫性疾病、心血管疾病、肿瘤等学科新药研发、靶点筛选、药物机制探索领域发挥重要作用^[23-24]。通过模型组和正常组比较发现 IL-4、IL-17、IFN- γ 、TNF- α 、CCL3、CX3CL1 等免疫相关细胞因子与自身免疫性甲状腺炎发病相关,与既往研究相一致。甲炎康泰颗粒剂可通过调节这些免疫相关细胞因子表达而减轻甲状腺损伤,从而发挥治疗作用。

综上,本实验在 EAT 大鼠模型上验证了甲炎康泰颗粒剂可调节免疫相关细胞因子表达水平,减轻自身免疫性甲状腺炎的甲状腺损伤,初步阐明了甲炎康泰干预自身免疫性甲状腺炎机制,为其临床应用提供了实验证据,后续实验需对相关靶点因子及上下游通路做进一步深入验证。

参 考 文 献 (References)

- [1] Botello A, Herrón M, Salcedo V, et al. Prevalence of latent and overt polyautoimmunity in autoimmune thyroid disease: a systematic review and meta-analysis [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2020, 93(4): 375-389.
- [2] Ragusa F, Fallahi P, Elia G, et al. Hashimotos, thyroiditis: epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2019, 33(6): 101367.
- [3] Merrill SJ, Minucci SB. Thyroid autoimmunity: an interplay of factors [J]. Vitam Horm, 2018, 106: 129-145.
- [4] Martin TC, Ilieva KM, Visconti A, et al. Dysregulated antibody, natural killer cell and immune mediator profiles in autoimmune thyroid diseases [J]. Cells, 2020, 9(3): 665-688.
- [5] Lontiris MI, Mazokopakis EE. A concise review of Hashimoto thyroiditis (HT) and the importance of iodine, selenium, vitamin D and gluten on the autoimmunity and dietary management of HT patients. Points that need more investigation [J]. Hell J Nucl Med, 2017, 20(1): 51-56.
- [6] Biondi B, Cappola AR, Cooper DS. Subclinical hypothyroidism: a review [J]. JAMA, 2019, 322(2): 153-160.
- [7] Ma B, Chen D, Liu Y, et al. Yanghe decoction suppresses the experimental autoimmune thyroiditis in rats by improving NLRP3 inflammasome and immune dysregulation [J]. Front Pharmacol, 2021, 21(12): 645354.
- [8] 刘铜华. 一种治疗桥本氏甲状腺炎的药物组合物及其制备方法: CN106421633B [P]. 2019-06-18.
Liu TH. The components and preparations of a new prescription for Hashimoto's thyroiditis: CN106421633B [P]. 2019-06-18.
- [9] 邓莉. 甲炎康泰治疗桥本氏甲状腺炎的临床疗效观察及药效研究 [D]. 西安: 陕西中医药大学; 2016.
Deng L. Clinical observation of the effect of Jia Yan Kang Tai mixture on the treatment of Hashimoto's thyroiditis and efficacy study [D]. Xi'an: Shaanxi University of Chinese Medicine; 2016.
- [10] Hou Y, Guo X, Zhang C, 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.
- [11] 张程斐, 王明慧, 孙伯菊, 等. 甲炎康泰对自身免疫性甲状腺炎大鼠 T-bet/GATA3 的影响 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(10): 3437-3442.
Zhang CF, Wang MH, Sun BJ, et al. Effect of Jia-Yan-Kang-Tai on T-bet/GATA3 in thyroid tissue and spleen of autoimmune thyroiditis rats [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med Mater Med, 2020, 22(10): 3437-3442.
- [12] 钱晨宏, 蒋烈浩, 郑国湾, 等. 中医药治疗桥本甲状腺炎现状与进展 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(3): 287-289.
Qian CH, Jiang LH, Zheng GW, et al. Status and progress of

- Chinese medicine for Hashimoto's thyroiditis [J]. Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med, 2021, 31(3): 287-289.
- [13] 丁雷, 董笑克, 刘玮, 等. 刘铜华教授治疗自身免疫性甲状腺炎的临床经验 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(10): 3456-3460.
- Ding L, Dong XK, Liu W, et al. Professor Liu Tonghua's clinical experience in treatment of autoimmune thyroiditis [J]. World Sci Tech Mod Tradit Chin Med Mater Med, 2020, 22(10): 3456-3460.
- [14] Faustino LC, Li CW, Stefan-Lifshitz M, et al. A novel mouse model of autoimmune thyroiditis induced by immunization with adenovirus containing full-length thyroglobulin cDNA; Implications to genetic studies of thyroid autoimmunity [J]. Thyroid, 2020, 30(9): 1338-1345.
- [15] Li Q, Wang B, Mu K, et al. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases; New T lymphocytes-Cytokines circuits beyond the Th1-Th2 paradigm [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3): 2204-2216.
- [16] 周芳宇, 王欣, 谭贵琴, 等. Graves 病细胞免疫学机制的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(3): 98-102.
- Zhou FY, Wang X, Tan GQ, et al. Advances in research on cellular immunological mechanism of Graves' disease [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(3): 98-102.
- [17] Fallahi P, Ferrari SM, Ragusa F, et al. Th1 chemokines in autoimmune endocrine disorders [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2020, 105(4): dgz289.
- [18] Di Dalmazi G, Chalan P, Caturegli P. MYMD-1, a novel immunometabolic regulator, ameliorates autoimmune thyroiditis via suppression of Th1 responses and TNF- α release [J]. J Immunol, 2019, 202(5): 1350-1362.
- [19] Zake T, Skuja S, Kalere I, et al. Upregulated tissue expression of T helper (Th) 17 pathogenic interleukin (IL)-23 and IL-1 β in Hashimoto's thyroiditis but not in Graves' disease [J]. Endocr J, 2019, 66(5): 423-430.
- [20] Massolt ET, Effraïmidis G, Korevaar TI, et al. Aberrant levels of hematopoietic/neuronal growth and differentiation factors in euthyroid women at risk for autoimmune thyroid disease [J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0153892.
- [21] Dhaiban S, Al-Ani M, Elemam NM, et al. Targeting chemokines and chemokine receptors in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. J Inflamm Res, 2020, 13: 619-633.
- [22] Davis PJ, Glinsky GV, Lin HY, et al. Actions of thyroid hormone analogues on chemokines [J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 3147671.
- [23] Poulsen TBG, Karamehmedovic A, Aboo C, et al. Protein array-based companion diagnostics in precision medicine [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2020, 20(12): 1183-1198.
- [24] 康婷, 陈波, 欧三桃. 慢性肾脏病血管钙化大鼠血清炎症因子抗体芯片检测及分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 9-15.
- Kang T, Chen B, Ou ST. Antibody microarray analysis of serum inflammatory cytokines in rats with chronic renal disease vascular calcification [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(1): 9-15.

[收稿日期] 2021-08-31