

二甲双胍治疗桥本甲状腺炎作用机制的初步探讨

陈光敏,周厚地,蒋鹏,王娟,陈其谋

摘要 **目的** 初步探讨二甲双胍治疗桥本甲状腺炎的作用机制。**方法** 选择健康SD雌性大鼠45只,随机分为空白组、模型组、二甲双胍组,采用高碘水联合甲状腺球蛋白与弗氏佐剂混合免疫注射法模拟桥本甲状腺炎大鼠模型。造模成功后,空白组及模型组予以0.9%氯化钠溶液灌胃,二甲双胍组按300 mg/kg二甲双胍灌胃,连续给药4周,处死各组大鼠并取样。采用ELISA测定血清甲状腺功能指标(TSH、T₃、T₄、TGAb、TPOAb)及甲状腺组织炎症因子(TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-12)水平;HE染色观察甲状腺组织病理变化;TUNEL荧光染色检测甲状腺组织细胞凋亡;免疫组化检测甲状腺组织中Fas、Fas-L表达;Western blot测定甲状腺组织中Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3蛋白表达;qRT-PCR检测甲状腺组织中Fas、Fas-L、FADD mRNA表达。**结果** 与空白组比较,模型组血清中TSH、TGAb、TPOAb水平、阳性细胞比率、甲状腺组织中TNF- α 、IL-6含量及Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3表达升高,血清FT₃、FT₄水平及甲状腺组织中IL-10、IL-12含量降低($P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组血清中TSH、TGAb、TPOAb水平、阳性细胞比率、甲状腺组织中TNF- α 、IL-6含量及Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3表达降低,血清FT₃、FT₄水平及甲状腺组织中IL-10、IL-12含量升高($P < 0.05$)。**结论** 二甲双胍抑制桥本甲状腺炎进展,其作用机制可能与抑制Fas/Fas-L介导的细胞凋亡途径有关。

关键词 桥本甲状腺炎;二甲双胍;Fas/Fas-L途径;细胞凋亡

中图分类号 R 581.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)06-0991-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.06.028

桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)是一种慢性自身免疫性甲状腺疾病,其特征是自身免疫介导的甲状腺破坏^[1]。由于遗传易感性、炎症、过量碘摄入、感染及其他环境因素影响,其发病率正

逐渐上升^[2]。目前,HT的治疗方法主要包括替代疗法和免疫疗法(如甲状腺激素、糖皮质激素等),但大多数病人仍常常进展为亚临床及临床甲状腺功能减退,需终身随访及补充甲状腺激素,耗费大量财力及医疗资源^[3]。二甲双胍作为治疗2型糖尿病的有效药物之一,其降糖外的其他作用逐渐被发现,如降低糖尿病患者心血管疾病风险、治疗神经退行性病变、抗自身免疫、抗肿瘤、抗甲状腺肿大及减少亚临床甲减发生等^[4]。此外,二甲双胍可显著抑制正常甲状腺细胞和乳头状甲状腺癌细胞中TNF- α 诱导的CXCL8的分泌,并呈现剂量依赖性^[5]。而HT所涉及重要发病机制就有TNF- α 的活性增强,然而二甲双胍作用HT的机制尚不清楚。该研究旨在初步探讨二甲双胍治疗HT的作用机制,以期HT的治疗提供新方向。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验选取SPF级SD雌性大鼠45只,体质量(250 ± 20)g,由重庆医科大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(渝)2018-0003。大鼠在实验前适应性饲养1周,饲养温度22~23℃,相对湿度60%,光照/黑暗周期为12 h/12 h,自由饮水,给予标准饲料饲养。

1.2 主要试剂与仪器 二甲双胍(纯度98%,批号:1115-70-4)购自湖北诺纳化学公司;碘化钠(批号:201607133)、甲状腺球蛋白(10 mg/支,批号:167771)、完全弗氏佐剂(10 mg/支,批号:20160620)和不完全弗氏佐剂(10 mg/支,批号:20160801)均购自上海羽朵生物科技有限公司;促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、游离三碘甲腺原氨酸(free triiodothyronine, FT₃)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT₄)、甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulin antibody, TGAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素(interleukin, IL)-10、IL-6、IL-12 ELISA试剂盒均购自上海茁彩生物科技有限公司;相关一抗肿瘤坏死因子受体超家族成员6(tumor necrosis factor receptor super-

2022-02-22 接收

基金项目:重庆市教育委员会科学技术研究项目(编号:KJQN202-000447)

作者单位:重庆医科大学附属大学城医院内分泌科,重庆 401331

作者简介:陈光敏,女,硕士,主治医师;

周厚地,女,硕士,副主任医师,责任作者, E-mail: cqmemji@126.com

family member 6, Fas, 货号: ab133619)、Fas 配体 (Fas ligand, Fas-L, 货号: ab231011)、Fas 相关死亡结构域蛋白 (Fas-associated death domain protein, FADD, 货号: ab108601)、裂解半胱天冬酶-3 (cleaved cysteine aspartic acid-specific protease 3, cleaved caspase-3, 货号: ab32351) 购自英国 Abcam 公司; Western 裂解液 (货号: P0013) 购自上海碧云天生物; RNA TRIzol Reagent (批号: vs18061730) 购自合肥博美生物科技有限责任公司; PHY-III 型病理组织漂烘仪购自常州市中威电子仪器公司; BA210 Digital 数码三目摄像显微镜购自上海麦克奥迪公司; JY200C 电泳仪购自北京君意东方电泳设备公司; PIKORed 96 实时荧光定量仪购自美国 ThermoFisher 仪器公司。

1.3 桥本甲状腺炎大鼠模型构建及分组治疗 将大鼠随机分为 3 组: 空白组、桥本甲状腺炎组 (模型组)、二甲双胍组, 每组 15 只, 适应性喂养 1 周后于第 2 周模型组及二甲双胍组饮用高碘水 (碘化钠 0.64 g/L), 连续 2 周。第 4 周模型组及二甲双胍组双足后皮下多点注射由完全弗氏佐剂充分乳化的油包水状的甲状腺球蛋白, 每只大鼠注射 100 μ g, 共 2 次, 中间间隔 2 d, 作为初次免疫。第 5 周起于后背注射不完全弗氏佐剂乳化的甲状腺球蛋白 (100 μ g), 每周 1 次, 共 4 周作为加强免疫, 在此过程中空白组注射等量的 0.9% 氯化钠溶液, 饮用纯净水, 各组大鼠均取尾部血测定 TSH、FT3、FT4、TGAb、TPOAb 水平, 评价模型是否制备成功, 造模组大鼠 TGAb 和 TPOAb 水平高于空白组均值 2 倍及以上视为造模成功^[6]。造模成功后二甲双胍组以 300 mg/kg 剂量灌胃^[7] 4 周, 空白组及模型组予以 0.9% 氯化钠溶液灌胃 4 周后, 处死各组大鼠并取样。

1.4 检测指标

1.4.1 大鼠一般情况 观察大鼠毛色、精神状态、摄食、活动情况、造模期间的束缚反应和大便质地等情况变化。

1.4.2 ELISA 测定甲状腺功能指标及炎症因子水平 采用戊巴比妥钠 (35 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠, 后将大鼠转移至预先消毒的超净工作台上, 腹主动脉取血, 3 000 r/min 低温离心 15 min 分离血清, 采用 ELISA 试剂盒测定血清中甲状腺功能指标 (TSH、T3、T4、TGAb、TPOAb) 水平。后采集大鼠甲状腺组织, 将甲状腺组织在冰 PBS 中冲洗, 滤纸吸干后, 剪成小块, 加入 5 ml PBS 在冰上用玻璃匀浆器匀浆, 再进行 2 次反复冻融, 进一步破碎细胞膜,

匀浆物以 5 000 r/min 离心 20 min, 取上清液, 按 ELISA 试剂盒测定甲状腺组织中炎症因子 (TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-12) 水平。

1.4.3 HE 染色观察甲状腺组织病理变化 取双侧甲状腺组织, 经由 4% 的多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片 (厚 5 μ m), 制片, 苏木精染色 4 min, 脱水, 伊红染色 3 min, 光学显微镜观察组织病理变化。

1.4.4 TUNEL 荧光染色检测甲状腺组织细胞凋亡 同 1.4.3 项制作甲状腺组织切片, 然后用 3% H_2O_2 处理 10 min 抑制内源性过氧化物酶活性。随后将切片与 TDT 标记缓冲液在 37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 用 DAPI 复染, TUNEL 阳性细胞染成绿色, 细胞核 DAPI 染色, 观察 TUNEL 阳性细胞。

1.4.5 免疫组化检测甲状腺组织中 Fas、Fas-L 表达 同 1.4.3 项制作甲状腺组织切片, 后用 3% H_2O_2 室温孵育 10 min, 采用高温高压柠檬酸盐缓冲液回收抗原, 滴加一抗 (Fas、Fas-L) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 滴加二抗工作液 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 用 PBS 洗涤后, 用 DAB 液孵育切片, 然后用苏木精复染, 中性树胶封片, 光学显微镜观察并采集图像。

1.4.6 Western blot 测定甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 蛋白表达 取双侧甲状腺组织, 在 RIPA 裂解缓冲液中裂解, 裂解产物在 4 $^{\circ}$ C 下以 12 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液。用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定总蛋白, 并转移到 PVDF 膜上。将膜与一抗 Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 (均 1 : 500) 或 β -actin (1 : 1 000) 在 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。然后与辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔 IgG 室温孵育 1 h。使用 ECL 暗室显色, 显色后的蛋白使用 Bio-Rad 全功能成像系统采集图像, Image-ProPlus 分析吸光度, 以 β -actin 为内参, 对照组目标蛋白质相对含量为 1, 计算各组蛋白质的相对表达量, 实验重复 3 次。

1.4.7 qRT-PCR 检测甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD mRNA 表达 取双侧甲状腺组织, 用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 用超纯 RNA 试剂盒纯化。引物序列: Fas, 5'-TGCCTGCCTCTGGTGCTTGCT-3' (正向) 和 5'-TTCACGAACGCTCCTCTTCAACTCCA-3' (反向); Fas-L, 5'-CTGCCTCCACTAAGCCCTC-3' (正向) 和 5'-TTGATACATTCCTAACCCCATTC-3' (反向); FADD, 5'-AACCTGGTGGCTGACCTGGTGGAA-3' (正向) 和 5'-CCTCGGGCTTGTCAGGCTGTTTCTG-3' (反向); GAPDH, 5'-TACCCACGGCAAGTTCAA-3' (正向) 和 5'-ACCAGCATCACCCATTT-3' (反向)。

总 RNA 按制造商说明书试剂盒反转录成 cDNA, 使用 SYBR Premix Ex Taq™ 定量基因表达水平, 初始变性(95 °C、10 min), 变性(95 °C、10 s), 退火(60 °C、10 s), 延伸(72 °C、10 s), 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析相对基因表达。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 软件进行数据统计分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二甲双胍对桥本甲状腺炎大鼠一般情况的影响 所有大鼠于第 1 周时, 饮水、进食、排便、皮毛及活动情况等均无明显异常。第 4 周初次免疫后, 造模大鼠开始出现皮毛粗糙或脱毛、倦怠嗜卧等现象。其中二甲双胍组 3 只大鼠灌胃给药时出现情绪激动、烦躁易怒等现象。

2.2 二甲双胍对桥本甲状腺炎大鼠甲状腺功能指标的影响 与空白组比较, 模型组血清中 TSH、TGAb、TPOAb 水平升高, FT3、FT4 水平降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组血清中 TSH、

TGAb、TPOAb 水平降低, FT3、FT4 水平升高($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 二甲双胍对桥本甲状腺炎大鼠甲状腺组织病理变化的影响 空白组甲状腺被膜未见增厚, 小叶大小不等, 小叶内可见甲状腺滤泡, 多呈圆形、或卵圆形, 大小不一, 滤泡壁由单层滤泡细胞组成, 细胞多呈立方状, 滤泡腔内充满上皮分泌的滤泡胶质, 间质结缔组织内血管丰富, 未见变性坏死或炎细胞浸润。模型组甲状腺结构受损, 局部区域滤泡结构不完整, 滤泡壁较薄, 滤泡细胞较为扁平甚至变性坏死, 坏死细胞胞核固缩或裂解, 胞质基本消失, 滤泡腔内可见脱落的细胞碎片, 间质内血管轻微扩张。二甲双胍组甲状腺结构较为完整清晰, 滤泡大小不一, 滤泡细胞多呈立方状, 排列较为整齐, 少量滤泡细胞变性坏死, 滤泡腔内可见细胞碎片。见图 1。

2.4 二甲双胍对桥本甲状腺炎大鼠甲状腺组织炎症因子的影响 与空白组比较, 模型组甲状腺组织中 TNF- α 、IL-6 含量升高, IL-10、IL-12 含量降低($P < 0.01$); 与模型组比较, 二甲双胍组甲状腺组织中 TNF- α 、IL-6 含量降低, IL-10、IL-12 含量升高($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠甲状腺功能指标比较($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	TSH(mU/L)	FT3(pmol/L)	FT4(pmol/L)	TGAb(IU/ml)	TPOAb(U/ml)
空白	2.61 ± 0.34	1.34 ± 0.05	2.99 ± 0.17	5.60 ± 0.45	1.02 ± 0.04
模型	3.53 ± 0.26**	1.01 ± 0.04**	2.17 ± 0.12**	10.16 ± 0.50**	1.65 ± 0.08**
二甲双胍	2.88 ± 0.13 [#]	1.12 ± 0.04** [#]	2.54 ± 0.19* [#]	8.91 ± 0.41 [#]	1.37 ± 0.13 [#]
F 值	10.175	39.478	18.721	9.787	15.910
P 值	0.012	<0.001	0.003	0.013	0.004

与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

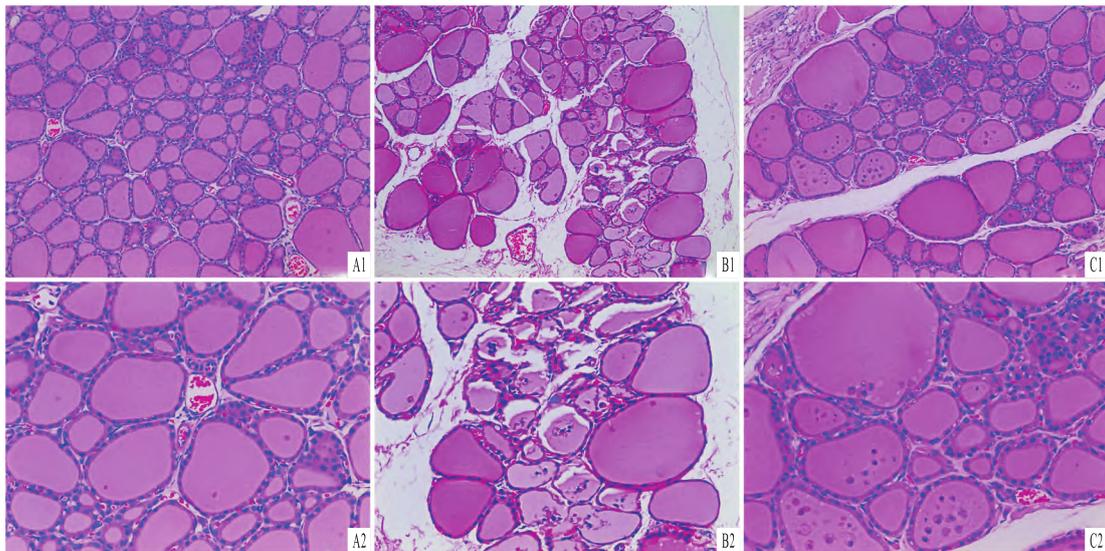


图 1 各组大鼠甲状腺组织 HE 染色

A: 空白组; B: 模型组; C: 二甲双胍组; 1: $\times 200$; 2: $\times 400$

表2 各组大鼠甲状腺组织中 TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-12 含量比较($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	TNF- α (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)
空白	33.69 \pm 2.67	11.78 \pm 0.61	19.33 \pm 1.32	4.74 \pm 0.08
模型	42.55 \pm 1.37 **	9.13 \pm 0.59 **	25.52 \pm 1.19 **	3.62 \pm 0.31 **
二甲双胍	35.70 \pm 2.42 ^{##}	10.94 \pm 0.76 [#]	22.11 \pm 0.88 **	4.14 \pm 0.25 **
F值	12.977	12.529	22.044	16.756
P值	0.007	0.007	0.002	0.004

与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.5 二甲双胍对桥本甲状腺炎大鼠甲状腺细胞凋亡数的影响 与空白组比较,模型组 TUNEL 染色阳性细胞比率增加($P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组 TUNEL 染色阳性细胞比率降低($P < 0.01$)。见图2。

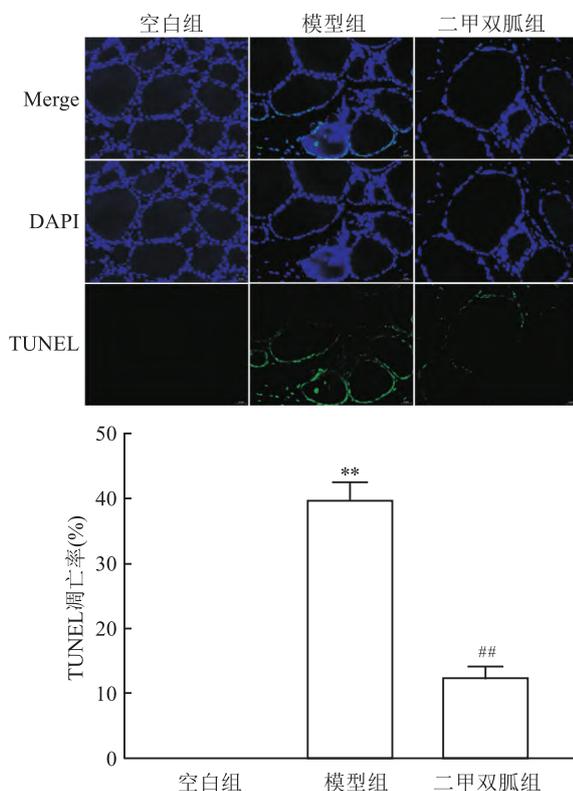


图2 各组大鼠甲状腺细胞凋亡数的影响 $\times 400$

与空白组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$

2.6 二甲双胍对桥本甲状腺炎大鼠 Fas/Fas-L 途径的影响 免疫组化染色结果显示,与空白组比较,模型组甲状腺组织中 Fas、Fas-L 表达升高($P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组甲状腺组织中 Fas 表达降低($P < 0.05$),Fas-L 表达无差异统计学意义(图3A、B)。qRT-PCR 检测结果显示,与空白

组比较,模型组甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD mRNA 表达均升高($P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD mRNA 表达均降低($P < 0.05$)(图3D)。Western blot 检测结果显示,与空白组比较,模型组甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 蛋白表达升高($P < 0.01$);与模型组比较,二甲双胍组甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 蛋白表达降低($P < 0.01$)(图3C、E)。

3 讨论

HT 是发病率极高的自身免疫疾病,其以抗甲状腺球蛋白和甲状腺过氧化物酶抗体为特征,大多数 HT 患者血清 TPOAb 和 TGAb 均为阳性;TPOAb 和 TGAb 不仅可作为 HT 的诊断标志物,同时也是 HT 临床治疗及预后的重要依据,TPOAb、TGAb 可通过抗体-补体系统介导的 T 细胞活化引起甲状腺细胞损伤^[8]。Prummel et al^[9] 研究表明 TPOAb 抗体水平与 TSH 水平和甲状腺组织中淋巴细胞浸润密切相关。因此,降低 TGAb、TPOAb 水平是 HT 治疗的一个重要目标。此外,研究^[10] 报道在甲状腺全切除术后接受左旋甲状腺素(LT4)单一治疗的患者中,TSH 水平与血清 FT3 水平偏低有关,相反,在甲状腺体积增大的 HT 患者中血清 FT3 水平往往较高,FT4 水平较低,FT3/FT4 比值较高。因此,甲状腺体积增大可能是影响甲状腺激素平衡的重要因素,包括 FT3、FT4 水平。该研究中,HT 大鼠甲状腺组织中有炎症浸润,且 HT 大鼠血清 TSH、TGAb、TPOAb 水平均高于空白组,FT3、FT4 水平低于空白组($P < 0.01$),经二甲双胍治疗后 HT 大鼠血清 TSH、TGAb、TPOAb 水平降低,FT3、FT4 水平升高($P < 0.05$),甲状腺组织病理变化明显改善,说明二甲双胍抑制 HT 进展。该研究得到了先前研究^[11] 的证实,这些研究报道了某些化合物,如加减海藻玉壶汤等,能够逆转 HT 大鼠血清 FT3、FT4、TGAb、TPOAb 水平及甲状腺组织病理学改变,从而对 HT 大鼠具有明显的保护作用。此外,研究^[12] 表明细胞凋亡是甲状腺细胞死亡的主要机制,不同功能的促甲状腺激素受体抗体可诱导甲状腺细胞存活、增殖或诱导细胞死亡。该研究显示,二甲双胍治疗后甲状腺组织 TUNEL 染色阳性细胞比率降低($P < 0.01$),表明二甲双胍在一定程度上抑制甲状腺细胞的凋亡。以上结果提示,二甲双胍对 HT 大鼠具有良好的治疗效果。

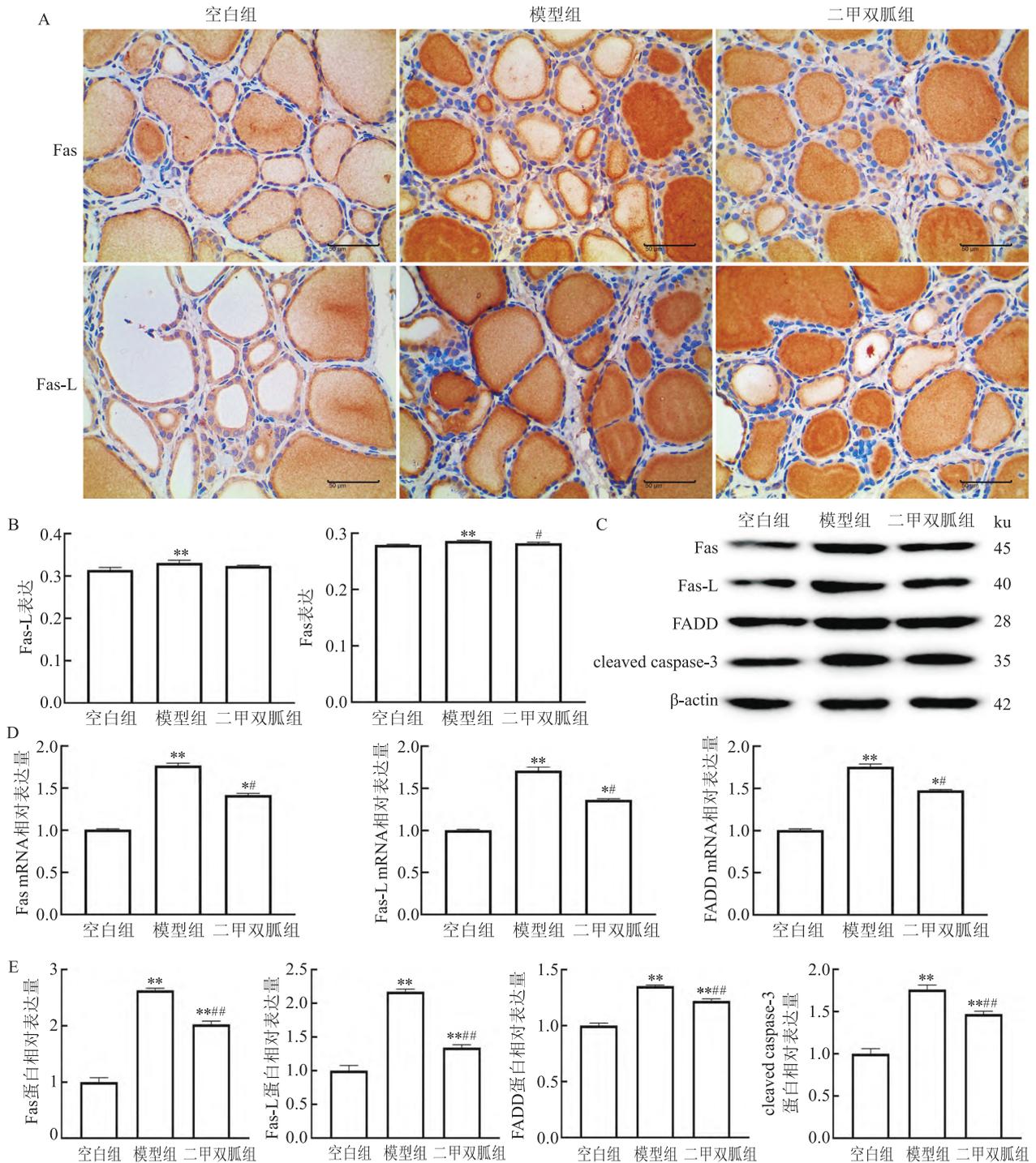


图3 各组大鼠甲状腺组织 Fas、Fas-L 表达

A: 免疫组化染色结果 ×400; B: 免疫组化染色 Fas、Fas-L 定量分析; C: 蛋白表达条带; D: Fas、Fas-L、FADD mRNA 表达分析; E: Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 蛋白表达分析; 与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

TNF- α 、IL-6、IL-12 均为 Th1 型细胞因子, 而 IL-10 为 Th2 型细胞因子, Th1 因子产生高水平的干扰素 γ , 干扰素 γ 进而促进巨噬细胞活化, 进一步产生 TNF- α 、IL-1、IL-6 和活性氧等炎性介质而导致甲状腺组织的破坏^[13]。该研究结果显示二甲双胍治疗后甲状腺组织中 TNF- α 、IL-6 含量降低, IL-10、IL-12

含量升高 ($P < 0.05$), 说明二甲双胍可使 Th1/Th2 之间平衡, 与李婵等^[14]的研究一致。此外, 研究表明几乎所有的甲状腺癌标本 (97%) 免疫组化染色显示 Fas 蛋白的存在, 而临近的正常甲状腺滤泡 Fas 免疫反应性较低, 且 caspase 依赖的细胞凋亡是由 Fas/Fas-L 途径触发的, Fas-L 激活 Fas 受体, Fas 受

体通过招募 FADD 传递信号, Fas-FADD 招募 proaspase-8, 结合形成 Fas-FADD-proaspase-8 复合物。自我切割 proaspase-8 激活 caspase-8 作为细胞凋亡的起始 caspase, caspase-8 同时激活 caspase-3, caspase-3 执行细胞凋亡^[15]。Boechat et al^[16] 研究显示自发性甲状腺炎小鼠甲状腺组织 Fas 存在不同表达。该研究结果显示, 模型组甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 表达较空白组升高, 二甲双胍治疗后甲状腺组织中 Fas、Fas-L、FADD、cleaved caspase-3 表达降低 ($P < 0.05$), 与 Boechat et al^[16] 研究一致。上述结果提示二甲双胍通过恢复 Th1/Th2 平衡及抑制 Fas/Fas-L 介导的细胞凋亡途径缓解 HT 症状。

综上所述, 二甲双胍可降低雌性大鼠桥本甲状腺炎相关自身抗体和甲状腺激素水平, 抑制桥本甲状腺炎发展, 其作用机制可能与抑制 Fas/Fas-L 介导的细胞凋亡途径有关。

参考文献

- [1] 夏琴, 杨昊, 柳田田, 等. 桥本甲状腺炎对妊娠早期小鼠海马 5-羟色胺及受体的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(6):101-5.
- [2] Ilnatowicz P, Drywień M, Wątor P, et al. The importance of nutritional factors and dietary management of Hashimoto's thyroiditis [J]. *Ann Agric Environ Med*, 2020, 27(2): 184-93.
- [3] Krysiak R, Szkróbka W, Okopień B. The effect of vitamin D on thyroid autoimmunity in levothyroxine-treated women with Hashimoto's thyroiditis and normal vitamin D status[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2017, 125(4): 229-33.
- [4] 孙勇, 刘武, 张维, 等. 二甲双胍对 2 型糖尿病并发神经病理性疼痛大鼠的抗痛觉异常作用及机制研究[J]. 中华神经医学杂志, 2021, 20(12): 1194-203.
- [5] Jia X, Zhai T, Zhang J A. Metformin reduces autoimmune antibody levels in patients with Hashimoto's thyroiditis: a systematic

- review and meta-analysis[J]. *Autoimmunity*, 2020, 53(6): 353-61.
- [6] 李叙颖, 张兰, 王琳, 等. 软坚消癭颗粒对肝郁脾虚型桥本甲状腺炎模型大鼠 Treg 和 Th17 细胞因子表达的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2019, 45(3): 558-65.
- [7] 刘佳瑞, 叶山东, 毕双杰, 等. 二甲双胍对 2 型糖尿病模型大鼠肾组织巨噬细胞移动抑制因子及其受体 CD74 表达的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(1): 6-10.
- [8] Grani G, Carbotta G, Nesca A, et al. A comprehensive score to diagnose Hashimoto's thyroiditis: a proposal [J]. *Endocrine*, 2015, 49(2):361-5.
- [9] Prummel M F, Wiersinga W M. Thyroid peroxidase autoantibodies in euthyroid subjects[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2005, 19(1):1-15.
- [10] Harada A, Nomura E, Nishimura K, et al. Type 1 and type 2 iodothyronine deiodinases in the thyroid gland of patients with huge goitrous Hashimoto's thyroiditis[J]. *Endocrine*, 2019, 64(3): 584-90.
- [11] Song X H, Zan R Z, Yu C H, et al. Effects of modified Haizao Yuhu Decoction in experimental autoimmune thyroiditis rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(2): 321-4.
- [12] Morshed S A, Ma R, Latif R, et al. How one TSH receptor antibody induces thyrocyte proliferation while another induces apoptosis[J]. *J Autoimmun*, 2013, 47: 17-24.
- [13] Guo Q, Qu H, Zhang H, et al. *Prunella vulgaris* L. Attenuates experimental autoimmune thyroiditis by inhibiting HMGB1/TLR9 signaling[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15:4559-74.
- [14] 李婵, 孙勤国. 益气养阴疏肝合剂通过 Fas/FasL 途径治疗大鼠桥本氏甲状腺炎[J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(1):134-9.
- [15] Wang M, Su P. The role of the Fas/FasL signaling pathway in environmental toxicant-induced testicular cell apoptosis: an update [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2018, 64(2): 93-102.
- [16] Boechat L H, Vilella C A, Zollner R L. Effect of iodide on Fas, Fas-ligand and Bcl-w mRNA expression in thyroid of NOD mice pretreated with methimazole[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2002, 35(3): 289-95.

Preliminary investigation of the mechanism of action of metformin in the treatment of Hashimoto's thyroiditis

Chen Guangmin, Zhou Houdi, Jiang Peng, Wang Juan, Chen Qimou

(Dept of Endocrinology, University-Town Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 401331)

Abstract Objective To preliminarily investigate the mechanism of action of metformin in the treatment of Hashimoto's thyroiditis. **Methods** Forty-five healthy SD female rats were randomly divided into control group, model group and metformin-treated group, and the rats were simulated with a model of Hashimoto's thyroiditis by immunoinjection of high iodine water combined with thyroglobulin and Freund's adjuvant. After successful modeling, the control group and the model group were perfused with saline, and the metformin group was administered with 300 mg/kg metformin by gavage for 4 weeks, and the rats in each group were executed and sampled. Serum thyroid

轻链检测在慢性肾脏病中的应用评估

史德宝,卢敏,潘亚萍,李聪,王中新,徐元宏,吕礼应

摘要 目的 评估慢性肾脏病(CKD)患者在不同分期下,血总轻链(sTLC)、尿总轻链(uTLC)及血游离轻链(sFLC)水平差异及其与肾功能指标的相关性;探讨各轻链指标在CKD患者分期中的预测价值。方法 回顾性分析292例CKD患者,排除浆细胞疾病、急性肾损伤、肿瘤性疾病等。根据估算肾小球滤过率(eGFR)将CKD患者分为CKD1~5期组。检测CKD患者sTLC、uTLC、sFLC及相应生化指标,比较各组指标间差异及相关性;采用受试者应用工作曲线(ROC曲线),以CKD1~2期合并为对照组,CKD3~5期合并为病例组,分析各轻链指标在CKD分期中的预测价值。结果 CKD1~5期多组间比较显示,sTLC κ 、sTLC λ 、sTLC κ/λ 、sFLC κ/λ 差异无统计学意义;而sFLC κ 、sFLC λ 、uTLC κ 、uTLC λ 差异有统计学意义($P < 0.05$),且随着CKD分期期次的增高而增高。sFLC κ 、sFLC λ 与肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、eGFR的相关系数高于uTLC κ 、uTLC λ ($P < 0.001$);sTLC κ 、sTLC λ 、sTLC κ/λ 、sFLC κ/λ 与肾功能指标相关系数低($P > 0.05$)。sFLC κ 、sFLC λ 预测CKD3~5期

病例组,最佳临界点为35.4、52.8 mg/L,AUC分别为0.916(0.883~0.949)、0.915(0.881~0.949),均高于uTLC κ 、uTLC λ ,AUC分别为0.811(0.754~0.869)、0.787(0.728~0.846)。结论 随着CKD分期期次的增加,sFLC、uTLC水平逐渐增加;sFLC、uTLC能够有效预测CKD3期以上患者,对CKD患者分层管理具有重要参考价值。

关键词 轻链;慢性肾脏病;受试者工作特征曲线

中图分类号 R 446.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)06-0997-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.06.029

轻链可与重链组装生成免疫球蛋白,根据其结构和恒定区抗原性差异分为 κ 和 λ 轻链,少量轻链可以游离状态释放入血,称为血游离轻链(serum free light chain, sFLC)。总轻链是指血或尿中结合和游离的轻链总和,总轻链及游离轻链常用于浆细胞疾病的辅助诊断及治疗监测。sFLC通过肾小球滤过而从血中快速清除,后被近端小管重吸收分解,轻链水平较为恒定。而日常工作中,常发现慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)患者,轻链异常率较高。研究^[1]指出CKD中,可观察到sFLC的积累。因此,排除单克隆sFLC对肾脏的损害外,多克隆的sFLC在CKD中也有重要价值。目前,研究多

2022-02-20 接收

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(编号:201904a07020-049)

作者单位:安徽医科大学附属第一医院检验科,合肥 230022

作者简介:史德宝,男,硕士,检验技师;

吕礼应,男,主任技师,硕士生导师,责任作者,E-mail:liy-
inglv@163.com

function indexes (TSH, T3, T4, TGAb, TPOAb) and thyroid tissue inflammatory factors (TNF- α , IL-10, IL-6, IL-12) levels were measured by ELISA; thyroid tissue pathological changes were observed by HE staining; thyroid tissue apoptosis was detected by TUNEL fluorescence staining; thyroid tissue expression of Fas, Fas-L was detected by immunohistochemistry; the expression of Fas, Fas-L, FADD and cleaved caspase-3 in thyroid tissue was determined by Western blot; Fas, Fas-L and FADD mRNA expression in thyroid tissue was detected by qRT-PCR. **Results** Compared with the control group, serum levels of TSH, TGAb, TPOAb, positive cell ratio, levels of TNF- α , IL-6 and expression of Fas, Fas-L, FADD and cleaved caspase-3 in thyroid tissue were significantly higher in the model group, and serum FT3 and FT4 levels and IL-10 and IL-12 levels in thyroid tissue significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, serum levels of TSH, TGAb, TPOAb, positive cell ratio, TNF- α and IL-6 contents and expression of Fas, Fas-L, FADD and cleaved caspase-3 in thyroid tissue were significantly lower in the metformin group, and serum FT3 and FT4 levels and IL-10 and IL-12 contents in thyroid tissue were significantly higher ($P < 0.05$). **Conclusion** Metformin inhibits the progression of Hashimoto's thyroiditis, and its mechanism of action may be related to the inhibition of the Fas/Fas-L-mediated apoptotic pathway.

Key words Hashimoto's thyroiditis; metformin; Fas/Fas-L pathway; cell apoptosis