

骨化三醇对桥本甲状腺炎患者 TPOAb、TgAb、Th17/Treg 相关细胞因子的影响

傅莉萍 金剑虹 王保法 徐新鹏

【摘要】目的 分析骨化三醇对桥本甲状腺炎(HT)患者血清甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(TgAb)、辅助性T细胞/调节性T细胞(Th17/Treg)相关细胞因子IL-10、IL-17水平的影响,从而探讨骨化三醇治疗桥本甲状腺炎可能的机制。**方法** 将70例桥本甲状腺炎患者随机分为治疗组(36例)和对照组(34例)。治疗组患者均口服骨化三醇胶丸0.25μg/次,1次/d,持续12周,对照组患者无特殊治疗。观察治疗前后两组患者甲状腺激素(TSH、FT₃、FT₄)、TPOAb、TgAb、IL-10、IL-17、血钙等指标变化。**结果** 治疗12周后治疗组25(OH)D、TPOAb、TgAb、IL-10、IL-17水平与治疗前、对照组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。两组在治疗前后血钙水平比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),无高钙血症发生。治疗组TPOAb水平与IL-10水平呈负相关($r=-0.463, P<0.01$),与IL-17水平呈正相关($r=0.385, P<0.05$);而TgAb水平与IL-10水平呈负相关($r=-0.591, P<0.01$)。**结论** 骨化三醇可以降低HT患者TPOAb、TgAb水平,其可能通过影响Th17/Treg相关细胞因子IL-10、IL-17水平从而发挥疗效。

【关键词】 骨化三醇 桥本甲状腺炎 甲状腺过氧化物酶抗体 甲状腺球蛋白抗体 细胞因子

Impact of calcitriol on the thyroid peroxidase antibody, thyroglobulin antibody levels and Th17/Treg related cytokines in serum of patients with Hashimoto's thyroiditis FU Liping, JIN Jianhong, WANG Baofa, et al. Department of Metabolism and Endocrinology, Hangzhou Traditional Chinese Medical Hospital, Hangzhou 310007, China

【Abstract】Objective To investigate the impact of calcitriol on serum levels of thyroid peroxidase antibody (TPOAb), thyroglobulin antibody (TgAb), Th17/Treg related cytokines IL-10 and IL-17 in patients with Hashimoto's thyroiditis (HT). **Methods** Seventy patients with Hashimoto's thyroiditis were randomly divided into trial group ($n=36$) and placebo group ($n=34$). The trial group received calcitriol 0.25μg/day for 12 wks. The serum thyroid hormone, TPOAb, TgAb, IL-10 and IL-17 levels were detected before and after treatment. **Results** There was no change in thyroid hormone levels before and after treatment in both groups ($P>0.05$). Serum TPOAb, TgAb and IL-17 levels in the trial group decreased significantly after the treatment ($P<0.01$), while the serum IL-10 level in the trial group increased significantly after the treatment ($P<0.01$). There were significant differences in TPOAb, TgAb, IL-17, IL-10 levels between the two groups after the treatment ($P<0.01$). TPOAb level was negatively correlated with IL-10 and positively correlated with TgAb and IL-17 levels in the trial group; and a negative correlation between the change of TgAb and IL-10 also was found. **Conclusion** Calcitriol can reduce TPOAb and TgAb levels in patients with Hashimoto's thyroiditis through regulating Th17/Treg related cytokines IL-10 and IL-17.

【Key words】 Calcitriol Hashimoto's thyroiditis Thyroid peroxidase antibody Thyroglobulin antibody Cytokines

近年来的研究表明,维生素D不仅可以调节钙磷代谢,而且与多种其他疾病如糖尿病、高血压、肿瘤、自身免疫性疾病等有关^[1-2]。桥本甲状腺炎(HT)又称为慢

性淋巴细胞性甲状腺炎,是一种具有器官特异性的自身免疫性甲状腺疾病,以甲状腺组织内淋巴细胞浸润及血清中高滴度甲状腺自身免疫抗体为特征。随着病程的进展,甲状腺功能将会逐渐减退,所以寻找安全、有效的药物是目前临床治疗HT的关键。有研究发现HT患者常会出现维生素D缺乏的状况,而补充维生素D可以使HT患者血清中的甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(TgAb)明显下降^[3-4],但其具体的机制

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.22.2019-2290

基金项目:杭州市科技计划引导项目(2014KJ04)

作者单位:310007 杭州市中医院内分泌代谢科

通信作者:傅莉萍, E-mail:69651597@qq.com

不明。骨化三醇是维生素 D 的活性形式。本研究拟分析骨化三醇对 HT 患者 TPOAb、TgAb 及辅助性 T 细胞/调节性 T 细胞(Th17/Treg)相关细胞因子 IL-10、IL-17 水平的影响,从而探讨骨化三醇治疗 HT 可能的机制。

1 对象和方法

1.1 对象 选取 2015 年 7 月至 2017 年 2 月本院收治的 70 例 HT 患者,按照随机数字表法分为治疗组和对照组。治疗组 36 例,其中男 2 例,女 34 例,年龄 33~64 (49.56±7.88)岁;对照组 34 例,其中男 2 例,女 32 例,年龄 31~66 (47.11±11.42)岁。两组患者年龄、性别比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。入选标准:(1)年龄≥18 岁,性别不限;(2)符合 HT 诊断标准:甲状腺弥漫性肿大,血清 TPOAb、TgAb 明显升高^[9];(3)促甲状腺激素(TSH)<10mIU/L,无需使用优甲乐治疗。排除标准:(1)25(OH)维生素 D[25(OH)D]水平>30μg/L,即体内维生素 D 充足者;(2)合并其他自身免疫性疾病,3 个月内曾服用免疫抑制剂或免疫调节剂者;(3)有急性感染等应激情况者;(4)近期有维生素 D 服用史者;(5)合并严重肝肾心功能不全者;(6)妊娠或哺乳期妇女。所有患者均知情同意,本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 治疗方法 治疗组患者均口服骨化三醇胶丸(规格:0.25μg/片,上海罗氏制药有限公司)0.25μg/次,1 次/d,持续 12 周,每 4 周复查血钙。对照组患者无特殊治疗。两组患者均于 12 周后抽血复查相关指标。

1.3 指标测定 在治疗后 0 周和 12 周分别采血。采用德国 SIEMENS 公司的 ADVIA CENTAUR XP 化学发光免疫分析仪及配套试剂盒检测 25(OH)D;采用美国雅培 i4000 化学发光免疫分析仪及配套试剂盒检测甲状腺功能[TSH、游离三碘甲状腺原氨酸(FT₃)、游离甲状腺素(FT₄)、TPOAb、TgAb];采用美国 BECKMAN COULTER

AU5800 全自动生化仪测定血钙。采用 ELISA 法测定血清 IL-10、IL-17,试剂盒购自武汉博士德生物有限公司。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计学软件。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较采用配对 t 检验,组间比较采用两独立样本 t 检验。相关性分析采用 Pearson 相关。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后 TSH、FT₃、FT₄、25(OH)D 及血钙水平的比较 两组患者治疗前 TSH、FT₃、FT₄、25(OH)D、血钙水平比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);治疗 12 周后治疗组 25(OH)D 水平较治疗前、对照组均明显升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。两组在治疗前后血钙水平比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),无高钙血症发生。见表 1。

2.2 两组患者治疗前后 TPOAb、TgAb、IL-10、IL-17 水平的比较 两组患者治疗前 TPOAb、TgAb、IL-10、IL-17 水平比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);治疗 12 周后治疗组 TPOAb、TgAb、IL-10、IL-17 水平与治疗前、对照组比较差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。见表 2。

2.3 治疗组 TPOAb、TgAb 水平与 IL-10、IL-17 水平的相关性分析 相关性分析显示治疗组 TPOAb 水平与 IL-10 水平呈负相关($r=-0.463, P<0.01$),与 IL-17 水平呈正相关($r=0.385, P<0.05$);而 TgAb 水平与 IL-10 水平呈负相关($r=-0.591, P<0.01$),TgAb 水平与 IL-17 水平无明显相关性($r=0.303, P>0.05$)。

3 讨论

HT 是最常见的自身免疫性甲状腺炎,具有起病隐匿、病程长、缺乏典型临床表现等特点,主要以甲状腺弥

表 1 两组患者治疗前后 TSH、FT₃、FT₄、25(OH)D、血钙水平的比较

组别	n	TSH(mIU/L)		FT ₃ (pmol/L)		FT ₄ (pmol/L)		25(OH)D(μg/L)		血钙(mmol/L)	
		0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周
治疗组	36	2.84±2.19	2.48±1.60	3.97±0.48	4.09±0.60	12.52±3.47	13.02±1.78	15.08±3.23	20.51±6.89 ^{*△}	2.20±0.12	2.22±0.13
对照组	34	2.52±1.49	2.94±1.10	4.11±0.51	4.35±0.58	12.22±1.60	12.39±1.03	13.99±2.32	15.45±4.99	2.22±0.12	2.23±0.13

注:与 0 周时比较,^{*} $P<0.01$;与对照组比较,[△] $P<0.01$

表 2 两组患者治疗前后 TPOAb、TgAb、IL-10、IL-17 水平的比较

组别	n	TPOAb(IU/ml)		TgAb(IU/ml)		IL-10(pg/ml)		IL-17(pg/ml)	
		0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周	0 周	12 周
治疗组	36	649.78±252.25	408.65±218.65 ^{*△}	213.49±89.22	133.72±83.61 ^{*△}	7.31±1.88	9.33±2.16 ^{*△}	8.33±2.65	5.78±1.87 ^{*△}
对照组	34	615.69±354.66	643.18±346.61	218.13±157.75	230.43±143.48	7.33±2.06	7.36±2.21	7.78±3.12	7.96±3.33

注:与 0 周时比较,^{*} $P<0.01$;与对照组比较,[△] $P<0.01$

慢性肿大、TPOAb 和 TgAb 增高为主要表现,目前 HT 确切的发病机制仍不明确,多数研究者认为其发病是由环境、遗传及免疫紊乱等共同作用导致的,其中免疫因素是公认的 HT 主要发病原因,而具有生物活性的维生素 D 被认为是免疫调制器,有研究发现在 HT 患者中维生素 D 缺乏的发生率明显高于正常人^[6],而补充维生素 D 可以使 HT 患者的 TPOAb、TgAb 水平明显下降^[3-4]。在实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠模型中发现骨化三醇可有效改善大鼠甲状腺滤泡排列紊乱的状况,减轻淋巴细胞的浸润,降低 TgAb、TPOAb 水平^[7]。本研究结果也发现 HT 患者服用骨化三醇 12 周后 TPOAb 平均水平从 (649.78±252.25)IU/ml 降到了 (408.65±218.65)IU/ml, TgAb 平均水平从 (213.49±89.22)IU/ml 降到了 (133.72±83.61)IU/ml,但对甲状腺激素水平无明显影响。既往研究表明高滴度的 TPOAb 会增加甲减的发生风险^[8],而且在甲状腺功能减退症患者中左旋甲状腺素片的剂量与 TPOAb 的滴度呈正相关^[9],说明抗体滴度的下降有利于疾病的预后。

Th17/Treg 是一对具有促炎抑炎作用的辅助性 T 细胞亚群,前者通过分泌细胞因子等机制介导炎症反应,后者可抑制效应性 T 细胞活化及炎症细胞因子的产生,维持体内免疫功能动态平衡^[10]。既往研究表明 HT 患者存在 Th17/Treg 的失衡。IL-17 作为 Th17 分泌的特征性因子(同时也是一种促炎因子),研究发现 HT 患者存在血清及甲状腺组织的 IL-17 的水平升高的情况^[11-12];而 Treg 细胞主要通过分泌 IL-10 等抑制炎症因子来调节免疫应答,从而减轻对机体组织的免疫损伤。而研究发现 HT 患者外周血 IL-10 水平显著低于健康人群^[13]。另有学者采用原位杂交和免疫组化的方法发现 IL-10 信号位于甲状腺组织浸润的淋巴细胞和单核细胞内,其表达量随 HT 病程的进展而减少。HT 终末期患者甲状腺组织内几乎无 IL-10 的表达。

本研究发现 HT 患者在骨化三醇的干预下血清中 IL-17 的水平明显下降,与对照组相比差异有统计学意义。IL-17 能刺激人成纤维细胞表达细胞间黏附分子,促使中性粒细胞和巨噬细胞在甲状腺组织中浸润^[14],并诱导内皮细胞和巨噬细胞分泌 IL-6、IL-8、前列腺素 E₂ 等多种促炎症细胞因子,介导炎症反应和甲状腺组织的免疫损伤,促进自身免疫性甲状腺疾病的发生、发展。因此 IL-17 水平的下降一定程度上反映了甲状腺组织炎症反应和免疫损伤的减轻。

本研究中治疗组患者血清 IL-10 水平经过骨化三醇治疗后明显上升,而 IL-10 是体内重要的免疫抑制细

胞因子,可以主动抑制自身免疫细胞的活化,在维持机体免疫耐受和免疫应答稳态中发挥重要作用。IL-10 水平上升可能表示对自身免疫反应抑制能力的增强,减轻炎症反应和免疫损伤对甲状腺的损害。

相关性分析表明在治疗组 TPOAb 水平与 IL-10 水平呈负相关,而与 IL-17 水平呈正相关,同时 TgAb 水平与 IL-10 水平呈负相关,提示骨化三醇可能通过 IL-10、IL-17 等细胞因子途径,改善机体 Th17/Treg 的失衡状态,使 TPOAb、TgAb 水平得到改善,从而发挥对 HT 的治疗作用。

综上所述,本研究表明骨化三醇对 HT 患者甲状腺功能影响不大,但可降低 HT 患者 TPOAb、TgAb 水平。骨化三醇可能通过自分泌或旁分泌的方式下调 IL-17 和上调 IL-10,改善机体甲状腺 Th17/Treg 的平衡偏移,使 TPOAb、TgAb 水平下降。

4 参考文献

- [1] Legarthy C, Grimm D, Wehland M, et al. The Impact of Vitamin D in the Treatment of Essential Hypertension[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 455-468. DOI: 10.3390/ijms19020455.
- [2] Liu W, Zhang L, Xu HJ, et al. The Anti-Inflammatory Effects of Vitamin D in Tumorigenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2736-2751. DOI: 10.3390/ijms19092736.
- [3] Chaudhary S, Dutta D, Kumar M, et al. Vitamin D supplementation reduces thyroid peroxidase antibody levels in patients with autoimmune thyroid disease: an open-label randomized controlled trial[J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2016, 20(3): 391-398. DOI: 10.4103/2230-8210.179997.
- [4] 左志华,赵丹青,张冲,等.口服维生素 D 对桥本甲状腺炎患者抗甲状腺过氧化物酶抗体的影响[J]. *临床内科杂志*, 2018, 35(10): 699-701. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2018.10.015.
- [5] 葛均波,徐永健. 内科学(8 版)[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:697-698.
- [6] Kim D. Low vitamin D status is associated with hypothyroid Hashimoto's thyroiditis[J]. *Hormones*, 2016, 15, 385-393. DOI: 10.14310/horm.2002.1681.
- [7] 杨雪威,王思源,赵佳,等.骨化三醇对桥本甲状腺炎大鼠血清炎症性细胞因子表达的影响及其意义[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2018, 37(5): 904-908. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6264.2018.05.032.
- [8] Radetti G, Maselli M, Buzi F, et al. The natural history of the normal/mild elevated TSH serum levels in children and adolescents with Hashimoto's thyroiditis and isolated hyperthyrotropinaemia: a 3-year follow-up[J]. *Clin Endocrinol*, 2012, 76(3): 394-398. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2011.04251.x.
- [9] Okuroglu N, Ozdemir A, Sertbas Y, et al. The relationship between thyroid antibody titer and levothyroxine dose in patients with overt primary hypothyroidism[J]. *Ann Saudi Med*, 2017, 37(3): 189-193. DOI: 10.5144/0256-4947.2017.189.
- [10] Littman DR, Rudensky AY. Th 17 and regulatory T cells in mediating

and restraining inflammation[J]. Cell, 2010, 140(6):845–858. DOI: 10.1016/j.cell.2010.02.021.

- [11] 余玲, 吴汉妮, 屈新才, 等. IL-17 在桥本甲状腺炎甲状腺组织中的表达研究[J]. 中国免疫学杂志, 2009, 25(2):185–187.
- [12] Esfahanian F, Ghelich R, Rashidian H, et al. Increased Levels of Serum Interleukin-17 in Patients with Hashimoto's Thyroiditis[J]. Indian J Endocrinol Metab, 2017, 21(4):551–554. DOI: 10.4103/ijem.IJEM_412_16.
- [13] 毕建华, 郝兰香, 黄飞, 等. 桥本甲状腺炎患者外周血 CD4⁺CD25⁺

Foxp3⁺ 调节性 T 细胞及 IL-10 的检测及临床意义[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(1):38–40. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2017.01.012.

- [14] Li JR, Hong FY, Zeng JY, et al. Functional interleukin-17 receptor A are present in the thyroid gland in intractable Graves disease [J]. Cellular Immunology, 2013, 281(1):85–90. DOI: 10.1016/j.cellimm.2013.02.002.

(收稿日期:2019-08-02)

(本文编辑:俞骏文)

(上接第 2397 页)

炎症相关标志物 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的浓度,下调肿瘤相关通路蛋白 IGF-2R、Ras、c-Myc、 β -catenin、PPAR γ 及 PAK-1 的表达有关。

4 参考文献

- [1] Vigneri PG, Tirrò E, Pennisi MS, et al. The insulin/IGF system in colorectal cancer development and resistance to therapy [J]. Frontiers in Oncology, 2015, 5:230. DOI:10.3389/fonc.2015.00230.
- [2] An W, Bai Y, Deng SX, et al. Adiponectin levels in patients with colorectal cancer and adenoma: a meta-analysis[J]. Eur J Cancer Prev, 2012, 21:126–133. DOI:10.1097/CEJ.0b013e32834c9b55.
- [3] Xu XT, Xu Q, Tong JL, et al. Meta-analysis: circulating adiponectin levels and risk of colorectal cancer and adenoma[J]. J Dig Dis, 2011, 12:234–244. DOI:10.1111/j.1751-2980.2011.00504.x.
- [4] Joshi RK, Kim WJ, Lee SA. Association between obesity-related adipokines and colorectal cancer: a case-control study and meta-analysis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(24):7941–7949. DOI:10.3748/wjg.v20.i24.7941.
- [5] Sugiyama M, Takahashi H, Hosono K, et al. Adiponectin inhibits colorectal cancer cell growth through the AMPK/mTOR pathway [J]. Int J Oncol, 2009, 34(2):339–344.
- [6] Wei EK, Giovannucci E, Fuchs CS, Willett WC, et al. Low plasma adiponectin levels and risk of colorectal cancer in men: a prospective study[J]. J Natl Cancer Inst, 2005, 97(22):1688–1694. DOI:10.1093/jnci/dji376.
- [7] Nishihara T, Baba M, Matsuda M, et al. Adiponectin deficiency enhances colorectal carcinogenesis and liver tumor formation induced by azoxymethane in mice[J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(42):6473–6480. DOI:10.3748/wjg.14.6473.
- [8] Moon HS, Liu X, Nagel JM, et al. Salutary effects of adiponectin on colon cancer: in vivo and in vitro studies in mice[J]. Gut, 2013, 62(4): 561–70. DOI:10.1136/gutjnl-2012-302092.
- [9] 潘月龙, 白瑞, 李鑫, 等. 一种建立糖尿病小鼠结肠直肠癌模型的方法: CN201610511851.1[P]. 2016–10–26.
- [10] 王理, 西年, 高华, 等. 结肠癌肝转移模型构建方法的优化[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(36):5855–5860. DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.

- [11] Liska D, Stocchi L, Karagkounis G, et al. Incidence, patterns, and predictors of locoregional recurrence in colon cancer [J]. Ann Surg Oncol, 2017, 24(4):1093–1099. DOI:10.1245/s10434-016-5643-z.
- [12] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1):7–34. DOI:10.3322/caac.21551.
- [13] van de Poll-Franse LV, Haak HR, Coebergh JW, et al. Disease-specific mortality among stage I–III colorectal cancer patients with diabetes: a large population-based analysis [J]. Diabetologia, 2012, 55(8):2163–2172. DOI:10.1007/s00125-012-2555-8.
- [14] Smith CJ, McKay GA, Fisher M. Diabetes, colorectal cancer and cyclooxygenase 2 inhibition[J]. Int J Clin Pract, 2008, 62(5):810–815. DOI:10.1111/j.1742-1241.2008.01726.x.
- [15] Teng JA, Wu SG, Chen JX, et al. The Activation of ERK1/2 and JNK MAPK Signaling by Insulin/IGF-1 Is Responsible for the Development of Colon Cancer with Type 2 Diabetes Mellitus[J]. PloS One, 2016, 11(2):e0149822. DOI:10.1371/journal.pone.0149822.
- [16] Sanchez-Lopez E, Flashner-Abramson E, Shalpour S, et al. Targeting colorectal cancer via its microenvironment by inhibiting IGF-1 receptor–insulin receptor substrate and STAT3 signaling[J]. Oncogene, 2016, 35(20):2634–2644. DOI:10.1038/onc.2015.326.
- [17] Berster JM, Goke B. Type 2 diabetes mellitus as risk factor for colorectal cancer[J]. Arch Physiol Biochem, 2008, 114(1):84–98. DOI:10.1080/13813450802008455.
- [18] Awazawa M, Ueki K, Inabe K, et al. Adiponectin enhances insulin sensitivity by increasing hepatic IRS-2 expression via a macrophage-derived IL-6-dependent pathway[J]. Cell Metabolism, 2011, 13(4):401–412. DOI:10.1016/j.cmet.2011.02.010.
- [19] Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The Role of Adiponectin in Cancer: A Review of Current Evidence[J]. Endocrine Review, 2012, 33(4):547–594. DOI:10.1210/er.2011-1015.
- [20] Parida S, Siddharth S, Sharma D. Adiponectin, Obesity, and Cancer: Clash of the Bigwigs in Health and Disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(10), 2519.

(收稿日期:2019-05-28)

(本文编辑:俞骏文)