

不同类型自身免疫性甲状腺疾病 Th1/Th2 平衡偏移的初步探讨

蒋艳苹 张惠莉

摘要 **目的** 初步探讨 Th1/Th2 平衡偏移在不同类型自身免疫性甲状腺疾病 (AITD 主要为 Graves 病和桥本甲状腺炎) 中的作用机制和不同病程阶段的变化。**方法** 选取 HT 患者 60 例, GD 患者 60 例, 非毒性结节性甲状腺肿患者 20 例及健康体检者 20 例作为研究对象, 各组间性别比例及年龄比较无统计学差异。通过 ELISA 法检测外周血清中 Th1 趋化因子 (CXCL10) 及 Th2 趋化因子 (CCL22) 的含量, 比较各组间及不同病程阶段血清 CXCL10、CCL22 水平及二者 (CXCL10/CCL22) 比值有无差异; 分析血清 CXCL10、CCL22 及二者比值与甲功 (TT3、TT4、FT3、FT4、TSH)、甲状腺自身抗体 (TPOAb、TGAb、TRA) 及炎症因子 (ESR、CRP) 的相关性。**结果** AITD 患者血清 CXCL10、CCL22 水平及二者比值高于结节性甲状腺肿患者及正常体检者 ($P < 0.05$), 后两者间差异无统计学意义。GD (病程小于 3 个月者) 患者血清 CCL22 水平明显高于 HT 者, 而 CXCL10/CCL22 明显低于 HT 者 ($P < 0.05$), 两组血清 CXCL10 水平比较, 差异无统计学意义。初发 AITD 患者与复发者比较 Th1/Th2 趋化因子水平及比值差异无统计学意义, 药物治疗稳定后, AITD 患者血清趋化因子水平及比值有所下降, 但仍高于正常体检者。血清 CXCL10、CCL22 水平及二者比值与 TPOAb、TGAb、TRA、CPR、ESR 及甲状腺体积呈正相关, 与 FT3、FT4、TSH 无相关性。**结论** Th1 及 Th2 共同参与了 AITD 的发病, 但以 Th1 为主。HT 与 GD 患者 Th1/Th2 偏移有所不同, 后者 Th2 免疫异常更为显著, 且经药物治疗后, GD 患者 Th1/Th2 平衡恢复较 HT 者更为明显。

关键词 自身免疫性甲状腺疾病 Graves 病 桥本甲状腺炎 Th1/Th2 失衡 趋化因子 10 趋化因子 22

[中图分类号] R581 [文献标识码] A

Preliminary Study of Th1 / Th2 Imbalance in Different Types of Autoimmune Thyroid Disease. Jiang Yanping, Zhang Huili. Medical College of Qinghai University, Qinghai 810001, China

Abstract Objective To investigate the mechanisms that Th1/Th2 imbalance contributes to the autoimmune thyroid disease (HT and GD) and the variation of the imbalances in different stage. **Methods** A total of 60 autoimmune thyroiditis (Including the course within 3 months 30 and above 3 months 30), 60 Graves disease patients (Including the course within 3 months 30 and above 3 months 30), 20 nontoxic multinodular goiter patients and 20 healthy controls were objects of this study. The four groups were similar in gender distribution and age. In all subjects we measured serum levels of Th1 - associated (C - X - C motif) ligand 10 (CXCL10) and Th2 - associated (C - C motif) ligand 22 (CCL22) by ELISA, moreover, calculated the ratio of CXCL10/CCL22, compared the levels of CXCL10, CCL22 and the ratio among four groups and analyzed the correlation CXCL10, CCL22 or the ration of two between TT3, TT4, FT3, FT4, TSH, TPOAb, TGAb, TRAb, ESR, CRP and the thyroid volume. **Results** Patients with AITD showed higher levels of serum CXCL10, CCL22 and the ratio compared with the nontoxic multinodular goiter patients and healthy controls ($P < 0.05$). The latter two had no significant statistical difference. Patients with GD (the course within 3 months) showed significant higher levels of serum CCL22 and lower ratio than HT patients, but the levels of CXCL10 had no significant statistical difference between them. The newly diagnosed and recurring AITD had no significant statistical difference in levels of Th1/Th2 - associated chemokines and the ratio. After drug therapy, there was reduction in levels of chemokines and ratio in AITD, but still higher than healthy controls. No correlation was found between levels of CXCL10, CCL22 or the ratio and FT3, FT4 or TSH at any time point, but significant positive correlation was shown between CXCL10, CCL22 or the ratio and TPOAb, TGAb, TRAb, ESR, CRP and the thyroid volume. **Conclusion** The results indicate that both Th1 and Th2 be involved in the morbidity of AITD, but Th1 had absolute predominance. There was some difference in Th1/Th2 imbalances between HT and GD. The latter showed more obvious Th2 dysimmunity. Th1/Th2 imbalance resumed more tangible in patients with GD after treatment.

Key words Autoimmune thyroid disease; Graves disease; Autoimmune thyroid disease; Th1/Th2 imbalances; (C - X - C motif) ligand 10; (C - C motif) ligand 22

自身免疫性甲状腺疾病 (AITD) 是一种器官特异性自身免疫疾病, 主要包括 Graves 病 (GD) 和桥本甲状腺炎 (HT)。其主要特点为自身抗体的产生及甲状腺内不同程度淋巴细胞的浸润。近年来有研究认为 Th1/Th2 平衡偏移在 AITD 的发病中发挥重要作用^[1,2]。趋化因子 (chemokine) 是一类具有多种生物活性的小分子趋化性细胞因子, 其主要功能为特异趋化不同亚群白细胞至靶器官。在炎症、感染、肿瘤、应激、自身免疫、变态反应、移植排斥反应、AIDS、淋巴细胞归巢以及新生血管形成等众多病理生理的发生发展过程中发挥重要作用^[2,3]。其类型和表达量的差异是调节 Th1/Th2 细胞极化状态的重要因素, 通过与细胞表面特异性受体结合而调整 Th1/Th2 的极化状态。CXCL10 通过与细胞表面的 CXCR3 结合, 将 Th1 细胞招募至靶器官, 参与细胞免疫^[4,5]。CCL22 与 Th2 表面 CCR4 受体结合, 参与体液免疫^[6]。通过血清中趋化因子的水平, 可间接反映 Th1/Th2 平衡偏移的方向, 揭示 Th1/Th2 失衡在 AITD 发生、发展过程中的作用及药物治疗的转归情况^[7,8], 为 AITD 的诊断、治疗提供新的思路。

资料与方法

1. 一般资料: 2013 年 6~8 月于青海大学附属医院就诊的 HT (H 组) 60 例, 其中初治组即 H1 组 (治疗小于 3 个月, 甲状腺功能仍未恢复正常) 30 例, 稳定组即 H2 组 (规律治疗 3 个月以上, 患者自觉症状消失, 甲功恢复正常) 30 例。HT 的诊断采用森田诊断标准^[6,8]。GD (G 组) 60 例, 其中初治组即 G1 组 (同 H1 组) 30 例; 稳定组即 G2 组 (同 H2 组) 30 例。GD 的诊断采用 2008 年《中国甲状腺疾病诊治指南》推荐的诊断标准。非毒性结节性甲状腺中即 F 组 20 例; 正常对照组即 N 组 (年龄 < 15 岁或 > 70 岁; 既往严重的心、脑、肝、肾疾病; 无其他自身免疫性疾病病史; 无肿瘤、过敏性及血液性疾病; 近 1

个月内急性感染状态) 20 例^[8]。各组间性别比例及年龄比较, 无统计学差异。记录所有病例就诊时的病史及临床资料。

2. 方法: (1) 标本的采集及处理: 收取各研究对象空腹静脉血 5ml 至于不含抗凝剂的试管中, 3000r/min 离心 15min 后取上清液, 部分用于检测甲状腺功能、甲状腺自身抗体、CPR, 剩余部分放置在 -80℃ 冰箱中冷冻备用; 再抽取空腹静脉血 3ml 检测 ESR。 (2) 酶联免疫吸附试验试剂: 进口原装人 CXCL10 ELISA 试剂盒、CCL22 ELISA 试剂盒 (北京冬科生物科技有限公司)。 (3) 甲状腺相关指标的测定: 采用放射免疫分析法检测血清 FT3、FT4、TSH 及 TRAb 含量, 采用化学发光免疫分析法检测血清 TPOAb 及 TGAb 含量。 (4) 其他指标的测定: 采用 ELISA 法测定血清 CRP 含量, 采用自动血沉测定仪测定 ESR。

3. 甲状腺彩超: 记录各研究对象左右甲状腺叶的三径 (a、b、c), 并计算甲状腺体积。单叶体积 = $0.52abc$ ^[3]。

4. 统计学方法: 采用 SPSS 17.0 分析软件。正态分布资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 计数资料两组间比较采用 t 检验、多组间比较采用单因素方差分析; 相关性分析采用 Pearson 相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

H 组及 G 组血清 CXCL10、CCL22 水平及二者比值高于 F 组及 N 组 ($P < 0.05$), 后两者间差异无统计学意义, 详见表 1、表 2。G1 组血清 CCL22 水平明显高于 H1 组, 而 CXCL10/CCL22 明显低于 H 组 ($P < 0.05$), 两组血清 CXCL10 水平差异无统计学意义。H 组及 G 组中初发患者与复发者比较 Th1/Th2 趋化因子水平及比值差异无统计学意义。G2 组 CXCL10、CCL22 及二者比值较 G1 明显下降, 但仍高于 N 组, H2 组 CXCL10、CCL22 及二者比值较 H1 组下降不明显。血清 CXCL10、CCL22 水平及二者比值与 TPOAb、TGAb、TRAb、CPR、ESR 及甲状腺体积呈正相关, 与 TT3、TT4、FT3、FT4、TSH 无相关性, 详见表 3。

表 1 各组间甲状腺相关指标水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	TT3 (ng/ml)	TT4 (μg/dl)	FT3 (pg/dl)	FT4 (ng/dl)	TSH (mIU/L)	体积 (cm ³)
G1	11.76 ± 3.02	24.46 ± 5.24	21.24 ± 7.69	3.38 ± 1.37	0.00 ± 0.00	127.52 ± 37.15
G2	0.90 ± 0.14	8.63 ± 1.25	3.13 ± 0.59	1.15 ± 0.25	2.43 ± 0.81	50.43 ± 8.89
H1	0.37 ± 0.10	2.20 ± 0.92	1.39 ± 0.38	0.80 ± 0.21	37.75 ± 15.77	107.38 ± 20.18
H2	0.90 ± 0.14	8.48 ± 1.37	3.01 ± 0.38	1.15 ± 0.16	3.19 ± 0.81	45.61 ± 14.24
F	0.89 ± 0.14	8.58 ± 1.62	3.06 ± 0.82	1.16 ± 0.31	2.56 ± 0.62	19.60 ± 2.76
N	0.92 ± 0.22	8.54 ± 1.75	3.05 ± 0.37	1.15 ± 0.13	2.63 ± 0.89	19.87 ± 2.56

讨 论

根据靠近分子氨基端的前两个半胱氨酸间是否有其他氨基酸插入可将趋化因子分为 CC、CXC、C 及 CX3C 4 类。CC 类是最大的一类趋化因子, 其编码基

因位于人类第 16、17 号染色体上。主要包括 CCL1~18、CCL22、CCL23。CCL22 又称巨噬细胞来源的趋化因子 (MDC), 属 Th2 趋化因子, 其血清水平受 IL-4 调节。CCL22 的特异性受体为 CCR4, 其主要表达于

表 2 各组间 CXCL10、CCL22 水平及二者比值($\bar{x} \pm s$)

组别	CXCL10(ng/ml)	CCL22(ng/ml)	CXCL10/CCL22
G1	11.31 ± 0.32	1.28 ± 0.05	8.83 ± 0.31
G2	4.20 ± 0.31	0.49 ± 0.02	8.52 ± 0.52
H1	11.35 ± 0.40	1.09 ± 0.06	10.41 ± 0.44
H2	10.32 ± 0.26	1.01 ± 0.03	10.21 ± 0.26
F	3.35 ± 0.40	0.40 ± 0.05	8.05 ± 0.57
N	3.38 ± 0.34	0.42 ± 0.05	8.05 ± 0.53

表 3 血清 CXCL10、CCL22 水平与甲状腺自身抗体、血沉、C 反映蛋白、甲状腺体积之间的相关性分析

趋化因子		TRAb	TPOAb	TGAb	CRP	ESR	甲状腺体积
CXCL10	<i>r</i>	0.68	0.49	0.53	0.54	0.37	47.00
	<i>P</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
CCL22	<i>r</i>	0.78	0.49	0.57	0.57	0.40	0.50
	<i>P</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Th2 细胞、Th17 细胞、Treg 细胞表面^[9]。CXC 类趋化因子是第二大类趋化因子,大多由人类第 4 号染色体上的基因编码。CXCL10 又称干扰素诱导蛋白 10,属 th1 趋化因子,受血清 IFN- γ 的调节,其受体为 CXCR3,主要表达于 Th1、细胞毒性 T 细胞、Th17、NK 细胞表面^[8,10]。

有研究显示 AITD 患者甲状腺细胞在 IFN- γ 、IL-4 刺激下可分泌大量 CXCL10、CCL2,从而招募、活化 Th1、Th2 细胞,介导人体自身免疫进程^[4,10,11]。活化的 Th1、Th2 细胞分泌高水平的 IFN- γ 、IL-4,进一步促进 CXCL10、CCL22 分泌,进而活化更多 Th1、Th2 形成级联放大作用,推动 AITD 的进程^[12]。

AITD 包括 Graves 病(GD)、Graves 眼病(GO)、桥本甲状腺炎(HT)、萎缩性甲状腺炎(AT)、产后甲状腺炎(PPT),其中 GD 占 36%,HT 占 65%。GD 与 HT 有相似的病理特点,且有学者认为两者可相互转化,实为同种疾病的不同阶段。但两者的发病机制并不完全相同。在 95% 的 Graves 病患者体内可检测到 TRAb 的存在,其具有类似 TSH 的作用,可直接与甲状腺细胞膜上的 TSH 受体结合,促使甲状腺细胞增生,合成甲状腺激素增加,引起一系列高代谢症候群,甲状腺组织中淋巴细胞浸润不明显,组织破坏清。而 HT 以甲状腺内淋巴细胞浸润、淋巴滤泡形成、甲状腺组织结构破坏为主要病理特征。因细胞毒性 T 淋巴细胞在其发病中发挥重要作用。因此有学者认为,GD 的发病是与 Th2 细胞在 Th1/Th2 极化中占优势有关,相反 HT 与 Th1 优势应答相关,但多项研究所得结果亦不完全相同^[12,13]。

本研究结果显示,与结节性甲状腺肿患者及正常对照组相比,初治的 GD 及 HT 患者血清 CXCL10、CCL22 及两者比值均明显升高,提示 Th1 与 Th2 共同参与了 AITD 的发病,但以 Th1 占主导地位^[12-14]。初治的 GD 与 HT 患者相比,血清 CXCL10 水平无差异,与李守杰等研究结果一致^[15]。国内外关于 GD 与 HT 患者血清 Th2 趋化因子水平比较的研究较少,本研究首次发现 GD 患者血清 CCL22 水平明显高于 HT 患者($P < 0.05$),说明 Th2 在 GD 发病中的作用较 HT 明显;经甲巯咪唑治(MMI)疗病情平稳后,血清 CXCL10、CCL22 及两者比值均明显下降,但仍高于正常对照组,与 Antonelli 等^[8,13]观察的结果一致,证明 MMI 具有免疫调节的作用,能从根本上治疗 GD。但由于本研究所选研究对象治疗疗程短,Th1/Th2 失衡并未完全恢复,经左旋甲状腺素(L-T4)治疗病情平稳后,HT 患者血清 CXCL10、CCL22 及两者比值下降不明显,但有统计学意义,此与 Antonelli 等^[8,13]所得结果有所不同,他只观察到趋化因子水平有所下降,但无统计学意义。因 L-T4 并无免疫调节作用,血清趋化因子水平下降考虑与 L-T4 治疗后患者甲状腺体积明显缩小,免疫负荷减低有关。AITD 中初发者与复发者相比,血清 CXCL10 及 CCL22 水平差异无统计学意义,提示趋化因子可作为评估病情复发的指标。CXCL10 及 CCL22 与甲状腺自身抗体(TRAb、TPOAb、TGAb)、炎症因子(CPR、ESR)及甲状腺体积呈正相关,与甲状腺功能无相关,证明了趋化因子是通过介导异常免疫参与 AITD 发病的^[14]。同时,甲状腺自身在 AITD 的发病中占重要地位。

综上所述,检测血清趋化因子水平有助于 AITD 的诊断、鉴别诊断及复发的评估,对症治疗并不能从根本上解决 AITD 患者免疫失衡的本质,使用激素及免疫抑制剂治疗,弊大于利。如能以趋化因子及其受体为靶点,研制出新型治疗药物,将使 AITD 的治疗进入新的时期。

参考文献

1 Antonelli A, Fallahi P, Rotondi M, *et al.* Increased serum CXCL10 in Graves' disease or autoimmune thyroiditis is not associated with hyper- or hypothyroidism per se, but is specifically inflammatory process[J]. *Eur J Endocrinol*, 2006, 154(5): 651-658

2 Rotondi M, Chiovato L, Romagnani S, *et al.* Role of chemokines in endocrine autoimmune diseases[J]. *Endocrine Reviews*, 2007, 28(5): 492

3 Corona G, Biagini C, Rotondi M, *et al.* Correlation between, clinical, biochemical, color Doppler ultrasound thyroid parameters, and CXCL-10 in autoimmune thyroid diseases[J]. *Endocr J*, 2008, 55(2):

345 - 350

- 4 Fang Y, Zhao L, Yan F. Chemokine as novel therapeutic targets in autoimmune thyroiditis[J]. *Recent Pat DNA Gene Seq*, 2010, 4(1): 52 - 57
- 5 Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity [J]. *Immunity*, 2000, 12: 121 - 127
- 6 Cakir E. The relationship between LH and thyroid volume in patients with PCOS[J]. *Ovarian Res*, 2012, 5: 43
- 7 Ferrer - Francesch X, Caro P, Alcalde L, *et al.* One - tube - PCR technique for CCL2, CCL3, CCL4 and CCL5 applied to fine needle aspiration biopsies shows different profiles in autoimmune and non - autoimmune thyroid disorders [J]. *Endocrinol Invest*, 2006, 29(4): 342 - 349
- 8 Antonelli A, Fallahi P, Rotondi M, *et al.* Increased serum CXCL10 in Graves' disease or autoimmune thyroiditis is not associated with hyper - or hypothyroidism per se, but is specifically inflammatory process[J]. *Eur J Endocrinol*, 2006, 154(5): 651 - 658
- 9 Montane J, Bischoff L, Soukhatcheva G, *et al.* Prevention of murine autoimmune diabetes by CCL22 - mediated Treg recruitment to the pancreatic islets[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(8): 3024 - 3028
- 10 Yamazaki K, Tanigawa W, Suzuki K, *et al.* Iodide - induced chemo-

kines and genes related to immunological function in cultured human thyroid follicles in the presence of thyrotropin [J]. *Thyroid*, 2010, 20(1): 67 - 76

- 11 Garcio - Lopez MA, Sancho D, Sanchez - Madrid F, *et al.* Thyrocytes from autoimmune thyroid disorders produce the chemokines IP - 10 and Mig and attract CXCR3⁺ lymphocytes [J]. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2001, 86: 5008 - 5016
- 12 Romagnani P, Rotondi M, Lazzeri E, *et al.* Expression of IP - 10/CXCL10 and Mig/CXCL9 in the thyroid and increased serum levels of IP - 10/CXCL10 in the serum of subjects with recent onset Graves' disease [J]. *American Journal of Pathology*, 2002, 161: 195 - 206
- 13 Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, *et al.* High levels of circulating CXCL10 are associated with chronic autoimmune thyroiditis and hypothyroidism [J]. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2004, 89: 5496 - 5499
- 14 刘春蓉. 趋化因子与自身免疫性甲状腺疾病 [J]. *武警医院学报*, 2010, 19(7): 581 - 583
- 15 李守杰. 趋化因子 10 临床研究现状 [J]. *医学综述*, 2010, 16(12): 1770 - 1772

(收稿日期: 2013 - 11 - 27)

(修回日期: 2013 - 12 - 23)

百色地区壮族健康成人外周血细胞 各项指标参考范围调查

石 祥 韦建开 张海洁 兰周燕 邓益斌

摘 要 目的 建立广西壮族自治区百色地区壮族健康成人外周血细胞各项指标参考范围。**方法** 选取 2012 年 9 月 ~ 2013 年 10 月在笔者医院体检的壮族健康成人共 2876 例, 采用深圳迈瑞公司 BC - 6800 型全自动血液分析仪进行检测, 检测项目包括: 白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC)、血细胞比容 (HCT)、血红蛋白 (HBG)、平均红细胞体积 (MCV)、平均红细胞血红蛋白含量 (MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度 (MCHC)、血小板 (PLT), 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。**结果** 调查显示 WBC 成年男性 $(3.95 \sim 9.09) \times 10^9/L$, 成年女性 $(3.82 \sim 9.08) \times 10^9/L$, RBC 成年男性 $(4.22 \sim 5.60) \times 10^{12}/L$, 成年女性 $(3.83 \sim 5.05) \times 10^{12}/L$, HCT 成年男性 39.75% ~ 51.59%, 成年女性 34.90% ~ 45.44%, HBG 成年男性 114.85 ~ 164.47 g/L, 成年女性 101.23 ~ 131.66 g/L, MCV 成年男性 83.54 ~ 101.10 fL, 成年女性 82.90 ~ 99.15 fL, MCH 成年男性 25.31 ~ 32.68 pg, 成年女性 25.12 ~ 31.24 pg, MCHC 成年男性 $(294.21 \sim 330.47) g/L$, 成年女性 $(293.32 \sim 327.82) g/L$, PLT 成年男性 $(131.31 \sim 293.45) \times 10^9/L$, 成年女性 $(141.34 \sim 304.30) \times 10^9/L$, 男女间各项指标的参考范围存在着统计学差异 (除了 WBC), 且与现行参考范围有差异 (除了男性 HBG、MCH 和女性 HCT)。**结论** 该调查统计结果可初步为百色地区壮族健康成人外周血细胞各项指标检测提供参考。

关键词 壮族 健康成人 血细胞分析 参考范围

[中图分类号] R4 [文献标识码] A

Investigation of Reference Range of Peripheral Blood Cells in Healthy Adult of Zhuang Minority in Baise District. Shi Xiang, Wei Jiankai, Zhang Haijie, *et al.* Youjiang Medical University for Nationalities, College of Medical Laboratory, Guangxi 533000, China

基金项目: 广西高校大学生创新计划项目 (QJ CX201304)

作者单位: 533000 百色, 右江民族医学院医学检验学院

通讯作者: 邓益斌, 电子信箱: dengyb75@163.com