

桑色素调节NLRP3/Caspase-1通路改善大鼠实验性 自身免疫性甲状腺炎的研究*

孙雅军¹, 张艳芳¹, 许惠敏², 马永涛³, 李春¹, 聂春红⁴, 赵敏⁵

1. 开封市儿童医院内分泌科(开封 475000); 2. 开封市儿童医院 PICU(开封 475000); 3. 开封市儿童医院 急诊科(开封 475000);
4. 开封市儿童医院 化验室(开封 475000); 5. 河南大学附属淮河医院 呼吸与危重症医学科(开封 475000)

【摘要】目的 研究桑色素调节Nod样受体(NLR)家族中含有pyrin结构域的蛋白3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(Caspase-1)通路对大鼠实验性自身免疫性甲状腺炎的影响。**方法** 将大鼠随机分为6组:对照组,实验性自身免疫性甲状腺炎组(EAT),桑色素低、中、高剂量组(建模后每日灌胃桑色素50、100、200 mg/kg,连续6周)和雷公藤多苷组(LGT,建模后每日灌胃雷公藤多苷6.25 mg/kg,连续6周)。除对照组以外,其余各组均采用皮下注射0.1 mL含猪甲状腺球蛋白的不完全弗氏佐剂建立实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠模型,放射免疫分析法检测血清中甲状腺球蛋白(Tg-Ab)、甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)、三碘甲状腺原氨酸(T3)和四碘甲状腺原氨酸(T4)水平;逆转录-聚合酶链反应检测白细胞介素(IL)-17、IL-4、 γ 干扰素(INF- γ)的mRNA水平;试剂盒检测血清中蛋白质羰基含量、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)水平、丙二醛(MDA)活力;蛋白免疫印迹检测NLRP3、凋亡z相关斑点样蛋白(ASC)、Caspase-1蛋白表达。**结果** 与EAT组相比,桑色素低、中、高剂量组和LGT组血清中TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平降低($P<0.01$),IL-17、INF- γ 的mRNA水平上调($P<0.01$),IL-4的mRNA水平上调($P<0.01$),蛋白质羰基含量降低($P<0.01$),MDA活性降低($P<0.01$),8-OHdG水平降低($P<0.01$),NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平降低($P<0.01$),桑色素低、中剂量组上述指标与LGT组相比差异有统计学意义($P<0.05$),桑色素高剂量组和LGT组相比上述指标无明显差异,桑色素低、中、高剂量组间相比上述指标差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 桑色素通过调节NLRP3/Caspase-1通路能改善大鼠实验性自身免疫性甲状腺炎。

【关键词】 桑色素 实验性自身免疫性甲状腺炎 炎症 NLRP3/Caspase-1

Morin Improves Experimental Autoimmune Thyroiditis in Rats via NLRP3/Caspase-1 Pathway SUN Ya-jun¹, ZHANG Yan-fang¹, XU Hui-min², MA Yong-tao³, LI Chun¹, NIE Chun-hong⁴, ZHAO Min⁵. 1. Department of Endocrinology, Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng 475000, China; 2. PICU, Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng 475000, China; 3. Department of Emergency, Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng 475000, China; 4. Laboratory of Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng 475000, China; 5. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Huaihe Hospital Affiliated to Henan University, Kaifeng 475000, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of morin-regulated NLRP3/Caspase-1 pathway on experimental autoimmune thyroiditis in rats. **Methods** The rats were randomly assigned to 6 groups: control group, experimental autoimmune thyroiditis group (EAT), low-, medium- and high-dose morin groups (post-modeling gavage of 50, 100 and 200 mg/kg morin hydrate per day for 6 weeks) and tripterygium wilfordii polyglycosides group (LGT group, post-modeling gavage of 6.25 mg/kg tripterygium wilfordii polyglycosides per day for 6 weeks). Except for the control group, the rat model of experimental autoimmune thyroiditis was established by subcutaneous injection of 0.1 mL incomplete Freund's adjuvant containing porcine thyroglobulin. The levels of serum thyroglobulin (TgAb), thyroid peroxidase antibody (TPOAb), triiodothyronine (T3) and tetraiodothyronine (T4) in serum were detected by radioimmunoassay. The mRNA levels of interleukin-17 (IL-17), interleukin-4 (IL-4) and interferon γ (INF- γ) were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction. The levels of serum protein carbonyl content, 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG), and malondialdehyde (MDA) activity were checked with test kits. Expressions of NLRP3, apoptosis-related speck-like protein (ASC), and Caspase-1 were detected by Western blot. **Results** Compared with the EAT group, serum levels of TPOAb, TgAb, T3, and T4 in low-, medium- and high-dose Morin groups and LGT group were reduced ($P<0.01$) and the mRNA levels of IL-17, INF- γ and IL-4 were increased ($P<0.01$), the protein hydroxyl content, MDA activity, and 8-OHdG levels were reduced ($P<0.01$). The levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 were reduced ($P<0.01$), the levels of 8-OHdG were significantly reduced ($P<0.01$), and the levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 were significantly reduced ($P<0.01$). There were statistically significant differences between the data from the low-dose and the medium-dose Morin groups and the data of the LGT group ($P<0.05$), while data from the high-dose Morin group showed no significant difference compared with the data of the LGT group. Data from low-, medium- and high-dose Morin groups showed no statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** The findings suggest that Morin improved experimental

* 河南省科技攻关计划项目(No. 201601215)资助

autoimmune thyroiditis in rats through regulating NLRP3/Caspase-1 pathway.

【Key words】 Morin hydrate Experimental autoimmune thyroiditis Inflammation
NLRP3/Caspase-1

自身免疫性甲状腺炎(autoimmune thyroiditis, AIT)是一种器官特异性自身免疫性疾病,其特点是甲状腺淋巴细胞浸润程度不一,最终导致甲状腺萎缩和功能丧失^[1],占有甲状腺疾病的21%^[2]。最近,由于环境和多种其它因素,该疾病的发病率逐年增加^[3],因此,迫切需要探寻治疗AIT的有效方式。实验性自身免疫性甲状腺炎(experimental autoimmune thyroiditis, EAT)已被证明是研究AIT的理想模型,通过将甲状腺球蛋白(MTg)和佐剂直接注射到大鼠体内,或将先前已被MTg激活的MTg启动的供体脾细胞转移到同基因受体大鼠中均可诱导该疾病。桑色素是从黄桑木、桑橙树等桑科植物的树皮和许多中草药中提取的一种浅黄色素,属于黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎和抗癌等药理作用^[4],含有pyrin结构域的蛋白3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(Caspase-1)通路在机体免疫反应和疾病发生过程中发挥了关键作用^[5]。相关研究发现NLRP3炎症小体通路的激活与AIT的发生有关^[6]。目前尚未有研究探讨桑色素对AIT是否有治疗作用,本实验旨在研究桑色素调节Nod样受体(NLR)家族中含有pyrin结构域的蛋白3(NLRP3)/半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(Caspase-1)通路对大鼠EAT的影响。

1 对象和方法

1.1 实验动物

60只SD大鼠购自成都达硕实验动物有限公司,雄性,7周龄,体质量(210±15)g,许可证号:SYXK(川)2014-189,置于温控(22±1)℃和光控(200 Lux, 12 h光暗循环)动物设施中常规饲养7 d。

1.2 试验药物和主要试剂

桑色素(S2325)购自美国Selleck生物科技有限公司,化学式: C₁₅H₁₀O₇·H₂O, 相对分子质量: 320.25, 纯度≥97.06%; 雷公藤多苷(JKBw1779)购自安徽经科生物技术有限公司; 蛋白质羰基含量测定试剂盒(A087-1-2)、丙二醛(MDA, A003-1-2)测定试剂盒、8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG, H165)测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 弗氏不完全佐剂(P2031)、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(A0208)购自上海碧云天生物技术研究所; 猪甲状腺球蛋白(A0208-5)购自四川天府新区华阳正龙生化制品研究室; 抗兔 NLRP3(ab214185)、Caspase-1(ab1872)、凋亡相关斑点样蛋白(ASC, ab180799)、GAPDH(ab37168)购自美国Abcam。

1.3 动物模型建立^[7]和分组

将大鼠随机分为6组: 对照组、EAT组、桑色素低剂量组(MH50)、桑色素中剂量组(MH100)、桑色素高剂量组(MH200)和雷公藤多苷组(LGT), 每组10只。除对照组外, 其余各组每日皮下注射0.1 mL含猪甲状腺球蛋白(8 mg/mL)的不完全弗氏佐剂, 每周2次, 连续注射4周。最后一次注射不完全弗氏佐剂后开始进行药物干预, 桑色素低、中、高剂量组每日灌胃桑色素50、100、200 mg/kg, LGT组每日灌胃雷公藤多苷6.25 mg/kg^[8], 对照组和EAT组每日灌胃等量生理盐水, 连续灌胃6周。最后一次灌胃24 h后处死各组大鼠, 收集血清并分离取出甲状腺。

1.4 血清中自身抗体水平检测

药物干预最后一次灌胃24 h后空腹采集各组大鼠静脉血5 mL, 3 000 r/min离心10 min, 分离血清。采用放射免疫分析法检测血清中甲状腺球蛋白(Tg-Ab)、甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)、三碘甲状腺原氨酸(T₃)和四碘甲状腺原氨酸(T₄)水平。

1.5 RT-PCR检测大鼠甲状腺细胞白细胞介素(IL)-17、IL-4、γ干扰素(INF-γ) mRNA表达

用Trizol法从各组大鼠甲状腺细胞中提取总RNA, 用Nanodrop 分光光度计测定吸光度(A₂₆₀/A₂₈₀), 按照试剂盒说明书进行cDNA的合成和PCR的扩增, 反应条件为: 94℃预变性5 min, 94℃30 s, 55℃30 s, 72℃30 s, 扩增35个循环, 72℃10 min。引物序列: IL-17: F为5'-CTGATCAGGACGCGCAAAC-3', R为5'-TCGCTGCTGCCTTCACTGTA-3'; IL-4: F为5'-CGGCAACAAGGAACA-3', R为5'-ACCGCTGACACCTCTAG-3'; INF-γ: F为5'-ACTCATTTGAAAGCCTAG-3', R为5'-CCAGTTCCTCCAGATA-3'; GAPDH: F为5'-CAAGTTC AACGGCACAG-3', R为5'-CCAGTAGACTCCA CGACAT-3'。以GAPDH为内参基因, 用2^{-ΔΔCt}法计算各目的基因相对表达量。

1.6 大鼠血清氧化应激产物检测

根据试剂盒说明书, 用可见分光光度计测定大鼠血清中蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力。在370 nm处测蛋白质羰基吸光度值, 在450 nm处测8-OHdG吸光度值, 在532 nm处测MDA吸光度值。

1.7 Western blot检测大鼠甲状腺细胞NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达

收集各组大鼠甲状腺细胞并在冰上溶解25 min, 加

入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液提取总蛋白,用BCA试剂盒测定NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白质含量。提取等量的蛋白质样品,在100℃下变性5 min。然后使用SDS-PAGE凝胶电泳法分离并转移至PVDF膜,在4℃条件下加入相应一抗(1:5 000)并孵育过夜,清洗,然后在4℃下加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5 000),孵育2 h后加入发光液,曝光处理。ImageJ软件统计灰度值,以目的条带与GAPDH灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.8 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用方差分析法对各组间进行比较,两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 桑色素下调血清中TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平

放射免疫分析法测定血清TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平结果如图1所示。与对照组相比,EAT组TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平均升高($P < 0.001$),桑色素低剂量组TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平低于EAT组($P < 0.05$),桑色素中剂量组TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平低于EAT组($P < 0.01$),桑色素高剂量组和LGT组TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平低于EAT组($P < 0.001$),桑色素低、中剂量组TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平与LGT组差异有统计学意义($P < 0.05$),桑色素高剂量组与LGT组比较,TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平无明显差异($P > 0.05$),桑色素低、中、高剂量组间TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平差异有统计学意义($P < 0.05$),且桑色素各组TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平呈剂量依赖的方式降低。与对照组相比,桑色素低、中、高剂量组和LGT组TPOAb、TgAb、T3和T4水平均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

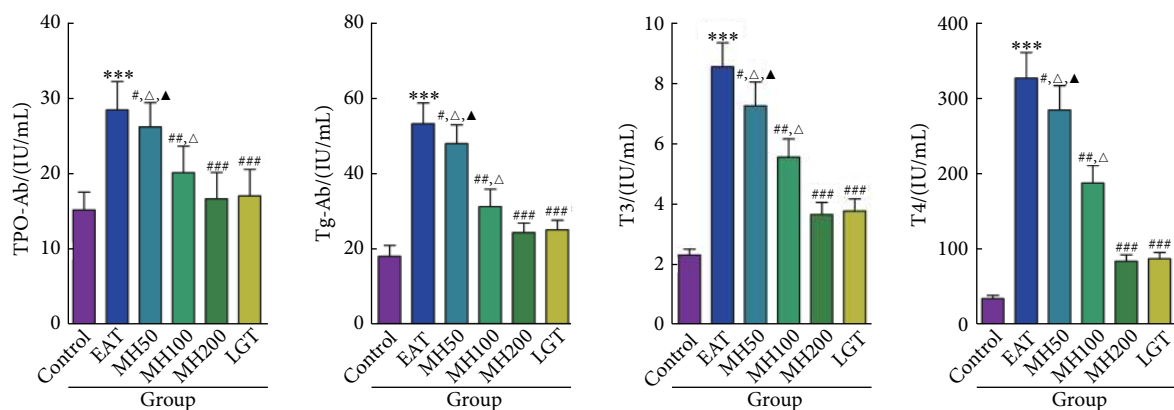


图1 血清中TPOAb、TgAb、T3和T4水平

Fig 1 Serum levels of TPOAb, TgAb, T3, and T4

*** $P < 0.001$, vs. control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, vs. EAT group; $\Delta P < 0.05$, vs. MH200 group and LGT group; $\blacktriangle P < 0.05$, vs. MH100 group.

2.2 桑色素下调IL-17、INF- γ mRNA水平,上调IL-4 mRNA水平

RT-PCR检测大鼠炎症因子IL-17、IL-4、INF- γ 的mRNA水平结果如图2所示。与对照组相比较,EAT组IL-17、INF- γ mRNA水平升高($P < 0.001$),IL-4 mRNA水平降低($P < 0.001$)。与EAT组相比较,桑色素低剂量组IL-17、INF- γ mRNA水平降低($P < 0.05$),IL-4 mRNA水平升高($P < 0.05$)。桑色素中剂量组IL-17、INF- γ mRNA水平低于EAT组($P < 0.01$),IL-4 mRNA水平高于EAT组($P < 0.01$)。桑色素高剂量组和LGT组IL-17、INF- γ mRNA水平低于EAT组($P < 0.001$),IL-4 mRNA水平高于EAT组($P < 0.001$)。桑色素低、中剂量组IL-17、IL-4、INF- γ mRNA水平与LGT组差异有统计学意义($P < 0.05$),桑色素高剂量组与LGT组比较IL-17、IL-4、INF- γ mRNA水平无明显差异($P > 0.05$)。桑色素低、中、高剂量组间IL-17、IL-4、INF- γ mRNA水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组相比,桑色素低、中剂量组IL-17、INF- γ mRNA水平均升高,IL-4 mRNA水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),桑色素高剂量组和LGT组IL-17 mRNA水平升高,IL-4 mRNA水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),INF- γ mRNA水平无明显差异。

2.3 桑色素降低蛋白质羰基含量、MDA活性、8-OHdG水平

各组大鼠血清中蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力结果如图3所示。与对照组相比较,EAT组蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力升高($P < 0.001$)。与EAT组相比较桑色素低剂量组蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力降低($P < 0.05$)。桑色素中剂量组蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力低于EAT组($P < 0.01$)。桑色素高剂量组和LGT组蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力低于EAT组($P < 0.001$)。桑色素低、中剂量组蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力

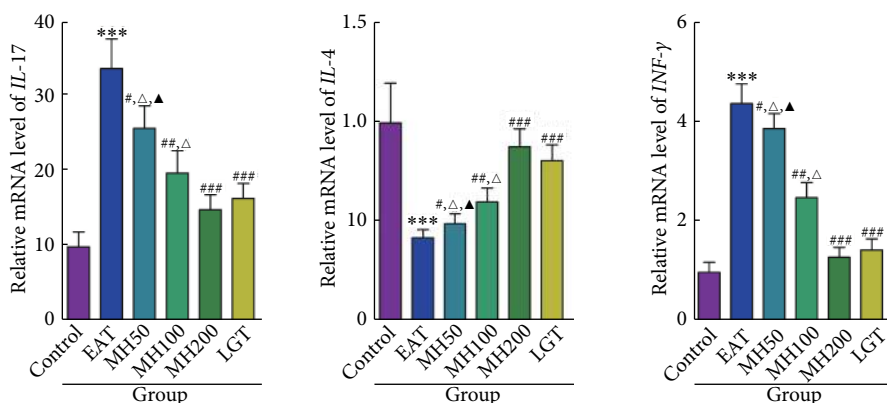


图 2 IL-17、IL-4、INF-γ的mRNA水平

Fig 2 Relative levels of IL-17, IL-4 and INF-γ mRNAs

*** $P < 0.001$, vs. control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, vs. EAT group; Δ $P < 0.05$, vs. MH200 group and LGT group; ▲ $P < 0.05$, vs. MH100 group.

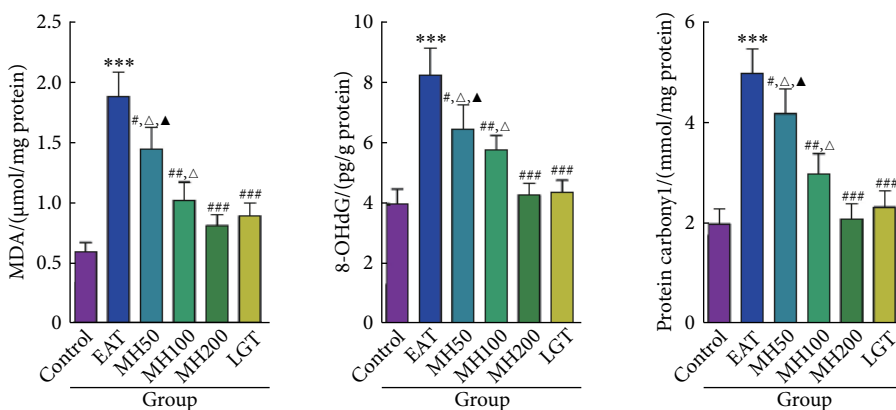


图 3 MDA活性、8-OHdG水平和蛋白质羰基含量

Fig 3 MDA activity, 8-OHdG level and protein carbonyl content

*** $P < 0.001$, vs. control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, vs. EAT group; Δ $P < 0.05$, vs. MH200 group and LGT group; ▲ $P < 0.05$, vs. MH100 group.

与LGT组差异有统计学意义($P < 0.05$), 桑色素高剂量组与LGT组比较蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力无明显差异($P > 0.05$)。桑色素低、中、高剂量组间蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组相比, 桑色素低、中剂量组蛋白质

羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 桑色素高剂量组和LGT组蛋白质羰基含量、8-OHdG水平、MDA活力无明显差异($P > 0.05$)。

2.4 桑色素下调大鼠NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平

见图4。与对照组相比, EAT组NLRP3、ASC、

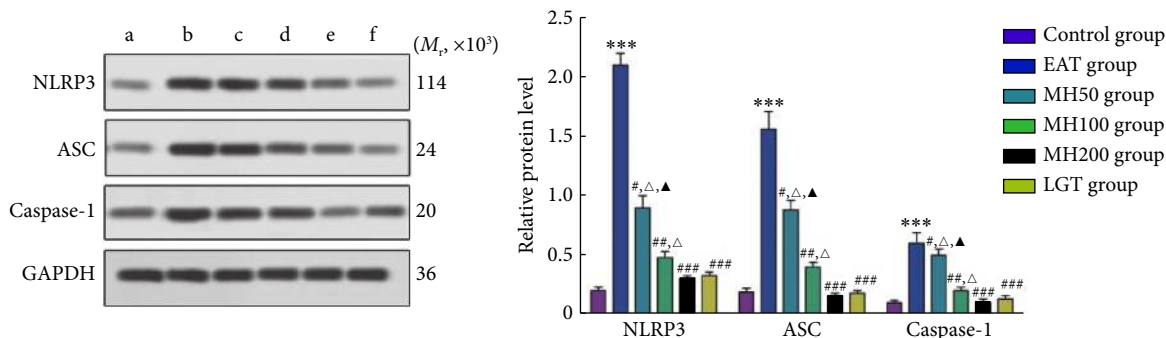


图 4 NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白水平

Fig 4 NLRP3, ASC, Caspase-1 protein levels

a: Control group; b: EAT group; c: MH50 group; d: MH100 group; e: MH200 group; f: LGT group. *** $P < 0.001$, vs. control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, vs. EAT group; Δ $P < 0.05$, vs. MH200 group and LGT group; ▲ $P < 0.05$, vs. MH100 group.

Caspase-1蛋白水平升高($P < 0.001$), 桑色素低剂量组NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平低于EAT组($P < 0.05$), 桑色素中剂量组NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平低于EAT组($P < 0.01$), 桑色素高剂量组和LGT组NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平低于EAT组($P < 0.001$), 桑色素低、中剂量组NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平与LGT组差异有统计学意义($P < 0.05$), 桑色素高剂量组与LGT组比较NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平无明显差异($P > 0.05$), 桑色素低、中、高剂量组间NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白水平差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组相比, 桑色素低、中剂量组NLRP3、ASC、caspase-1蛋白水平降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 桑色素高剂量组和LGT组NLRP3、ASC、caspase-1蛋白水平无明显差异($P > 0.05$)。

3 讨论

AIT又称桥本甲状腺炎或慢性淋巴细胞性甲状腺炎, 是一种较为常见的器官特异性免疫疾病, 在中国人群的发病率约为5%~10%^[9]。早期AIT患者可能出现短暂的甲亢, 晚期则可能发生甲状腺功能减退, 可能与遗传、环境、年龄和性激素水平有关^[10]。临床实践中, AIT的治疗主要依赖于甲状腺激素替代疗法^[11], 然而, 毒性、副作用和复发抑制治疗AIT有效策略的发展。探寻治疗AIT确切有效的药物非常重要。雷公藤已被普遍应用于治疗自身免疫性疾病, 故本研究以雷公藤多苷作为阳性对照药, 对比桑色素对AIT的影响。

桑色素是一种属于黄酮醇类的黄酮类化合物, 存在于桑葚、苦荞麦、菠萝蜜、绿茶等桑科植物中^[12]。桑色素被认为是一种有前途的天然药物, 因为其广泛的生物效应, 包括抗氧化、抗炎、抗癌、抗衰老和心血管保护等^[13]。黄酮类化合物已被证明对AIT具有治疗作用。XIA等^[14]研究发现黄酮类化合物木犀草素对小鼠EAT具有抗炎作用。王华等^[15]研究发现夏枯草黄酮类化合物对桥本甲状腺炎具有治疗作用。本研究显示, 在应用桑色素后, EAT模型血清TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平随桑色素剂量的增加呈下降趋势, 说明桑色素具有调控SIT血清中自身抗体水平的作用。

由于AIT部分是由甲状腺细胞分泌免疫调节细胞因子引起的, IL在炎症和自身免疫过程中起重要作用^[16]。促炎细胞因子参加AIT发病机制。LI等^[17]研究发现依达拉奉通过下调IL-17、INF- γ 的mRNA水平, 上调IL-4中mRNA水平治疗AIT。MA等^[18]研究发现使用间充质干细胞使EAT模型小鼠IL-4的mRNA增加, IL-17和INF- γ 的

mRNA降低。本研究结果与上述研究结果一致, 桑色素以剂量依赖的方式下调EAT模型大鼠IL-17、INF- γ mRNA水平, 上调IL-4 mRNA水平。这些结果表明桑色素可有效消除EAT模型对IL和促炎细胞因子的影响。

活性氧簇(ROS)的过量产生可能是细胞凋亡和细胞坏死以及甲状腺功能障碍的原因, 过量的ROS可以压倒细胞的抗氧化防御并损害DNA、脂质和蛋白质的正常结构和功能, 导致细胞抗氧化能力和甲状腺功能障碍的增加^[19]。蛋白质羧基是衡量蛋白质氧化损伤的指标, 8-OHdG是DNA氧化损伤的生物标志物^[20]。何婉霞等^[21]研究发现硒酵母通过下调MDA活力治疗AIT。ZHANG等^[22]研究发现桑色素通过抑制8-OHdG阻止过氧化氢诱导的细胞损伤。本研究表明, 通过MDA、蛋白质羧基和8-OHdG水平的显著增加所示, EAT模型显著诱导氧化应激。通过不同剂量桑色素治疗EAT大鼠的氧化应激结果表明, 桑色素作为抗氧化剂的能力可能是减轻甲状腺炎严重性的重要机制。

NLRP3炎性体通过激活Caspase-1并将IL-1 β 加工成活性细胞因子而在先天免疫中起关键作用^[23]。其中NLRP3、ASC和Caspase-1三种蛋白组成NLRP3炎性小体, 在AIT起重要作用。GUO等^[24]研究发现增强的NLRP3在AIM2介导的甲状腺滤泡细胞的细胞因子分泌和甲状腺功能亢进与AIT相关。JIANG等^[25]研究发现免疫细胞通过NLRP3/Caspase-1炎性体途径参与先天免疫应答。本研究证明, EAT模型上调NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达, 促进AIT, 桑色素具有下调NLRP3、ASC、Caspase-1蛋白表达的作用, 说明桑色素通过调节NLRP3/Caspase-1从而改善EMT。

综上, 本研究结果揭示了桑色素对EAT模型大鼠的治疗作用: 下调血清中TPO-Ab、Tg-Ab、T3和T4水平, 下调炎症因子IL-17、INF- γ mRNA水平, 上调炎症因子IL-4 mRNA水平, 降低蛋白质羧基含量、MDA活性、8-OHdG水平。这种治疗作用可能通过激活NLRP3/Caspase-1途径实现。本研究结果阐明了桑色素治疗AIT的潜力。

参 考 文 献

- [1] JIN X, GUAN Y F, SHEN H M, *et al*. Copy number variation of immune-related genes and their association with iodine in adults with autoimmune thyroid diseases. *Int J Endocrinol*, 2018, 2018: 1705478[2020-08-25]. <https://doi.org/10.1155/2018/1705478>.
- [2] KRYSIAK R, OKOPIEN B. The effect of levothyroxine and selenomethionine on lymphocyte and monocyte cytokine release in women with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011,

- 96(7): 2206–2215.
- [3] HOFLING D B, CHAVANTES M C, JULIANO A G, *et al.* Low-level laser therapy in chronic autoimmune thyroiditis: a pilot study. *Lasers Surg Med*, 2010, 42(6): 589–596.
- [4] SANG L, WANG X M, XU D Y, *et al.* Morin enhances hepatic NRF2 expression in a liver fibrosis rat model. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(47): 8334–8344.
- [5] LI J F. Neuroprotective effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate on autoimmune thyroiditis in a rat model by an anti-inflammation effect, anti-apoptosis and inhibition of trail signaling pathway. *Exp Ther Med*, 2018, 15(1): 1087–1092.
- [6] DUAN Y, KELLEY N, HE Y. Role of the NLRP3 inflammasome in neurodegenerative diseases and therapeutic implications. *Neural Regen Res*, 2020, 15(7): 1249–1250.
- [7] GUO Q, WU Y, HOU Y, *et al.* Cytokine secretion and pyroptosis of thyroid follicular cells mediated by enhanced NLRP3, NLRP1, NLRC4, and AIM2 inflammasomes are associated with autoimmune thyroiditis. *Front Immunol*, 2018, 9:1197[2019-10-10]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01197>.
- [8] 贾燕丽, 田港, 唐晓霞, 等. 海藻玉壶汤加减方对实验性自身免疫性甲状腺炎凋亡蛋白Fas/FasL表达的影响. *中华中医药学刊*, 2014, 32(10): 2456–2458.
- [9] CHISTIYAKOV D A. Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J Autoimmune Dis*, 2005, 2(1): 1[2020-08-25]. <https://doi.org/10.1186/1740-2557-2-1>.
- [10] LICHIARDOPOL C, MOTA M. The thyroid and autoimmunity. *Rom J Intern Med*, 2009, 47(3): 207–215.
- [11] KRISTENSEN B, HEGEDÜS L, MADSEN H O, *et al.* Altered balance between self-reactive t helper (Th)17 cells and Th10 cells and between full-length forkhead box protein 3 (Foxp3) and Foxp3 splice variants in Hashimoto's thyroiditis. *Clin Exp Immunol*, 2015, 180(1): 58–69.
- [12] GU M, ZHANG Y, LIU C, *et al.* Morin, a novel liver X receptor α/β dual antagonist, has potent therapeutic efficacy for nonalcoholic fatty liver diseases. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(18): 3032–3044.
- [13] OLONODE E T, ADERIBIGBE A O, ADEOLUWA O A, *et al.* Protective effects of morin hydrate on acute stress-induced behavioral and biochemical alterations in mice. *Basic Clin Neurosci*, 2018, 9(3): 195–208.
- [14] XIA N, CHEN G, LIU M, *et al.* Anti-inflammatory effects of luteolin on experimental autoimmune thyroiditis in mice. *Exp Ther Med*, 2016, 12(6): 4049–4054.
- [15] 王华, 陈月. 桥本甲状腺炎的中药治疗及机制探讨. *海军医学杂志*, 2017, 38(6): 582–584.
- [16] SIEMINSKA L, WOJCIECHOWSKA C, KOS-KUDLA B, *et al.* Serum concentrations of leptin, adiponectin, and Interleukin-6 in postmenopausal women with Hashimoto's thyroiditis. *Endokrynol Pol*, 2010, 61(1): 112–116.
- [17] LI H, MIN J, MAO X, *et al.* Edaravone ameliorates experimental autoimmune thyroiditis in rats through HO-1-dependent STAT3/PI3K/AKT pathway. *Am J Transl Res*, 2018, 10(7): 2037–2046.
- [18] MA S, CHEN X, WANG L, *et al.* Repairing effects of ICAM-1-expressing mesenchymal stem cells in mice with autoimmune thyroiditis. *Exp Ther Med*, 2017, 13(4): 1295–1302.
- [19] ROSTAMI R, AGHASI M R, MOHAMMADI A, *et al.* Enhanced oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis: inter-relationships to biomarkers of thyroid function. *Clin Biochem*, 2013, 46(4/5): 308–312.
- [20] 黄希, 陈琼, 罗碧如, 等. 喂养不耐受早产儿脐带血与尿中8-OHdG和皮质醇水平分析. *四川大学学报(医学版)*, 2018, 49(4): 631–634.
- [21] 何婉霞, 张玲, 李兴梅, 等. 硒酵母对成年桥本甲状腺炎患者TPO-Ab和氧化应激水平的影响. *临床误诊误治*, 2018, 31(9): 26–29.
- [22] ZHANG R, KANG K A, PIAO M J, *et al.* Cellular protection of morin against the oxidative stress induced by hydrogen peroxide. *Chem Biol Interact*, 2009, 177(1): 21–27.
- [23] 蔡琳, 易小波, 袁利邦, 等. 丹参酮II A通过NLRP3炎症体信号通路对小胶质细胞糖氧剥夺/再灌注损伤的保护作用. *四川大学学报(医学版)*, 2016, 47(6): 660–664.
- [24] GUO Q, WU Y, HOU Y, *et al.* Cytokine secretion and pyroptosis of thyroid follicular cells mediated by enhanced NLRP3, NLRP1, NLRC4, and AIM2 inflammasomes are associated with autoimmune thyroiditis. *Front Immunol*, 2018, 9: 1197[2020-08-25]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01197>.
- [25] JIANG W, LV H, WANG H, *et al.* Activation of the NLRP3/caspase-1 inflammasome in human dental pulp tissue and human dental pulp fibroblasts. *Cell Tissue Res*, 2015, 361(2): 541–555.

(2019 – 12 – 18收稿, 2020 – 08 – 27修回)

编辑 汤 洁