临床研究 文章编号:0253-3626(2010)05-0773-03

Graves 甲亢患者外周血白细胞糖皮质激素受体改变的意义

周桂莲,张 弛,李华珠
(湖南省人民医院内分泌科,长沙 410005)

【摘 要】目的:观察 Graves 甲亢患者外周血白细胞糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor,GR)的改变,探讨其在发病中的作用。方法:61 例首诊 Graves 甲亢,采用放射配体结合法测定白细胞 GR 水平,并以同期健康体检者 20 例作为对照,分析 GR 水平变化的意义。结果:甲亢组 GR 比正常对照组明显降低(t=7.389, P=0.000 1)。61 例甲亢患者随严重程度增加,GR 水平逐渐下降(F=7.389,P=0.000 1)。GR 水平和甲状腺激素 FT_3、FT_4 及 TSH 均呈负相关,相关系数分别为 0.741(t=5.643,P=0.013),0.689(t= 5.119,P=0.025)和 0.755(t=6.391,P=0.009)。61 例甲亢患者并发甲亢性突眼者 GR 水平下降(t=4.274,P=0.000 1),而并发甲亢性心脏病(t=0.273,P=0.786)和甲亢性周期麻痹者(t=0.961,P=0.336)GR 水平未见有统计学意义的下降。结论:Graves 甲亢患者外周血白细胞 GR 水平下降,并且跟病情严重程度、是否并发甲亢性突眼者有关。

【关键词】Graves 病;糖皮质激素受体;放射配体结合法
【中国图书分类法分类号】R582+.1 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-03-09

Determination and clinical significance of the binding capacity of glucocorticoid receptor on peripher alleukocytes from patients with Graves disease

ZHOU Gui-lian, et al
(*Department of Endorcrinology, the People's Hospital of Hunan Province*)

【Abstract】*Objective*: To observe the change and clinical significance of glucocorticoid receptor on peripher alleukocytes from patients with Graves disease. *Methods*: By radioligand binding assay, GR contents of peripher alleukocytes were determinated in 61 patients with Graves disease, 20 healthy volunteers as controls. *Results*: The GR contents in Graves disease group were significantly lower than that of the normal control group (t = 7.389, P = 0.000 1). In 61 patients with graves disease, GR contents gradually decreased (F = 7.389, P = 0.000 1) with increased Graves disease severity. GR contents were negatively correlated with FT3, FT4 and TSH, correlation coefficients were 0.741(t = 5.643, P = 0.013), 0.689(t = 5.119, P=0.025) and 0.755(t =6.391, P=0.009), respectively. GR contents were decreased (t = 4.274, P= 0.000) while patients complicated by thyrotoxic exophthalmos, but GR contents were not statistically significantly declined while patients complicated by hyperthyroid heart disease (t = 0.273, P = 0.786) or thyrotoxic periodic paralysis were (t =

作者介绍:周桂莲(1967-),女,副主任医师,
研究方向:内分泌临床。

性肥胖的的胰岛素抵抗密切相关。Apelin 作为一种新的脂肪因子,其在儿童单纯性肥胖发生发展中的作用尚有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Cynth I A L, Kather I N, Marg A D C, et al. Prevalence and trends in over weight among US children and adolesconts, 1999~2000 [J]. JAMA, 2002, 288(14): 1728-1732.

[2] 魏 梅. 上海市 2002 年 0~6 岁儿童单纯性肥胖流行病学基线调查[J].上海预防医学杂志,2007,19(7):349-352.

[3] 林穗方,曾芳玲,周燕燕,等.2006 年广州市 7 岁以下儿童单纯性肥胖流行病学调查分析[J].中国儿童保健杂志,2007,15(6):620-623.

[4] 王 红,冉域辰,曹 丽,等.成都市 0~18 岁儿童肥胖流行病学调查[J].现代预防医学,2008,35(3):460-463.

[5] Cole T, Bell I, Fleg A K M, et al. Establishing a standard definition for child over weight and obesity worldwide: international survey[J]. BMJ, 2000, 320: 1240-1253.

[6] Castan-Laurell I, Boucher J, Dray C, et al. Apelin, a novel adipokine over-produced in obesity: Friend or foe[J]. Molecular and Cellular Endocr inology, 2005, 245: 7-9.

[7] Heinonen M V, Purhonen A K, Miettinen P, et al. Apelin, orexin - A and leptin levels in morbid obesity and effect of gastric banding[J]. Rrgul Pept, 2005, 130 (1-2): 7-13.

[8] Daviaud D, Boucher J, Gesta S, et al. T NF α up - regulates apelin expression in human and mouse adipose tissue[J]. Fasebj, 2006, 20(9): 1528-1530.

[9] Beltowski J. Apelin and visfatin: unique "beneficial" adipokines up regulated in obesity[J]. Med Sci Monit, 2006, 12(6): RA112-119.

(责任编辑:冉明会)

0.961, $P = 0.336$). *Conclusion*: The binding capacity of GR on peripheral leukocytes in the Graves disease patients is lower than normal. This change may play roles in the pathogenic process of Graves disease and probably relate to the disease severity, thyrotoxic exophthalmos complicated.

【Key words】Graves disease; Glucocorticoid receptor; Radioligand binding assay

糖皮质激素(Glucocorticoid,GC)通过与糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor,GR)作用而参与机体代谢、生长发育、应激反应、免疫应答、神经系统活动与心血管功能调节等多种生理病理过程。研究表明,GR 水平的变化和肾病综合症[1]、冠心病[2]、风湿性关节炎[3]等多种疾病的发生发展中起着重要作用。本组观察 Graves 甲亢患者外周血白细胞 GR 的改变,探讨其在 Graves 甲亢发病中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

以 2009 年 1 月至 12 月入我院治疗的 Graves 甲亢患者为研究对象。纳入标准:①Graves 甲亢诊断明确;②首诊患者,既往未予抗甲状腺治疗;③对本研究知情同意。排除标准:①合并其他可能导致 GR 水平变化的任何疾病,如肾上腺皮质功能亢进、减退、肾病综合症、冠心病、风湿性关节炎等;②近期使用激素治疗的患者。共入选患者 61 例,其中男 13 例,女 48 例;年龄 18~53 岁,平均年龄(36.1±8.2)岁;病程 1~25 月,平均病程(4.3±1.1)月;甲状腺不肿大者 4 例、Ⅰ°肿大者 19 例、Ⅱ°肿大者 28 例、Ⅲ°肿大者 10 例;TT4< 1.4 倍正常值的轻度甲亢 11 例,>1.4 倍正常值的中度甲亢 45 例,有危象、甲亢性心脏病以及心力衰竭、肌病等的重度甲亢 5 例;有良性突眼者 45 例(73.8%),有心律失常等甲亢性心脏病者 9 例(14.8%),有甲亢性周期麻痹 2 例(3.3%)。另取同期没有肾上腺皮质功能异常及相关疾病的健康体检者 20 例作为对照。对照组年龄、性别等一般情况都和甲亢组相当($P>0.05$)。

1.2 白细胞 GR 测定

应用放射配体结合法进行测定,测定过程参照陈向芳等[4]的方法进行。Graves 甲亢确诊第 2 d 晨,抽取空腹肘静脉血 8~10 ml,肝素抗凝。离心,吸取白细胞,加入 3%葡聚糖 T500 溶液(Pharmacia Biotech 公司产品)10 ml,沉降。吸取上清离心,弃上清。沉渣内加入溶红细胞缓冲液 10 ml,37℃温育 10 min。离心后去上清。沉渣内加入 PBS 液于显微镜下计数,将白细胞调成(4~7)×10^6 个/ml。将调好的白细胞溶液分成总结合管和非特异结合管,2 管均加入[1,2,4-^{3}H]-地塞米松(^{3}H-Dex)(英国放射性化学试剂研究中心产品,放射性化学纯度 99%),非特异结合管再加入地塞米松(Dex 美国 Sigma 公司产品),加入的浓度为 ^{3}H-Dex 的 2 000 倍,20℃水浴 3 h 后,用冷 PBS 终止反应,洗去游离 ^{3}H-Dex,再加入闪烁液,置于液闪仪内测量。将总结合管的每分计数(Counts per minute,cpm)减去非特异结合管的 cpm,所得特异结合 cpm 值,再换算成 ^{3}H-Dex 特异结合容量(位点/细胞)。

1.3 甲状腺激素水平的测定

取肘静脉肝素抗凝血 2 ml,随即分离出血浆 -20℃冻存,于 4 周内解冻,应用放射免疫分析法检测血浆中 FT_3、FT_4 和 TSH 浓度。放射免疫试剂盒均购于北京北方生物技术研究所。具体检测步骤严格按照说明书进行。

1.4 统计学方法

首先对各组数据进行正态性检验,均为正态性。以($\bar{x}\pm s$)表示,2 组间比较采用 t 检验,3 组比较采用方差分析,两两比较用 q 检验。$P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。统计软件为 SPSS15.0。

2 结 果

2.1 Graves 甲亢患者 GR 水平的变化

甲亢组 GR 比正常对照组明显降低,差异有统计学意义,详见表 1。

2.2 GR 水平的变化和 Graves 甲亢病情的关系

61 例甲亢患者中,不同病情甲亢患者的 GR 水平不同,随严重程度的增加,GR 水平逐渐下降,差异有统计学意义,详见表 2。相关分析显示 GR 水平和甲状腺激素 FT_3、FT_4 及 TSH 均呈负相关,其相关系数分别为 0.741(t=5.643, P=0.013),0.689(t=5.119, P=0.025)和 0.755(t=6.391, P=0.009),这些结果均提示 GR 水平和 Graves 甲亢病情严重程度有关。

2.3 GR 水平和 Graves 甲亢并发症的关系

61 例甲亢患者中,并发甲亢性突眼 45 例,GR 水平低于未并发甲亢性突眼者,差异有统计学意义;并发甲亢性心脏病 9 例,GR 水平和未并发甲亢性心脏病者相当,差异未见统计学意义;并发甲亢性周期麻痹 2 例,GR 水平和未并发甲亢性周期麻痹者差异也未见统计学意义。

表 1 Graves 甲亢患者 GR 水平的变化

分组	GR(位点/细胞)	t/P
甲亢组(n=61)	4 238±975	7.389/0.000 1
正常组(n=20)	6 121±1032	

表 2 GR 水平的变化和 Graves 甲亢病情的关系

分组	GR(位点/细胞)	F/P
轻度甲亢组(n=11)	5 256 ± 1 087	
中度甲亢组(n=45)	4 139 ± 1 034	7.389/0.000 1*
重度甲亢组(n=5)	3 744 ± 944	

注:* 两两比较显示 3 组间 GR 水平均两两不同

表 3 GR 水平和 Graves 甲亢并发症的关系

并发症	有	无	t/P
甲亢性突眼	3 815 ± 946	5 015 ± 1 017	4.274/0.000 1
甲亢性心脏病	4 236 ± 947	4 345 ± 1 127	0.273/0.786

3 讨 论

Graves 甲亢是甲状腺功能亢进症中最多见的一种,目前较为认可的发病因素是以遗传为背景,在感染、药物、精神刺激等环境因素作用下,诱发体液免疫和细胞免疫功能紊乱所导致的[5],可以认为 Graves 甲亢是一种自身免疫病。GR 是核受体家族的重要成员之一,除和多种生理功能的调节有密切关系外,在免疫应答方面也有重要作用:GR 活化后可选择性抑制 Th1 介导的细胞免疫,促进 Th2 介导的体液免疫[6];GR 可以抑制抑制了多种致炎因子的产生;GR 参与调节胸腺细胞的凋亡。然而国内外对 GR 的研究[1-4]主要将集中在肾病综合症、冠心病及风湿性关节炎等疾病中,尚少有观察研究白细胞 GR 水平改变在 Graves 甲亢发病中的作用本研究,本研究对此进行探讨。

目前,GR 的检测方法有基因水平的,包括 Southern blot/Northern blot、原位杂交、PCR,以及蛋白水平的,检测方法有放射配体结合法、Western blot、免疫组化、ELISA 与流式细胞术等[7],本组采用放射配体结合法进行检测,有较高的特异度和灵敏度。检测结果显示甲亢组 GR 比正常对照组明显降低,同时 GR 水平的降低还和 Graves 病情的严重性密切相关,病情越重,GR 下降越明显。甲状腺激素的检测也显示了这一特征,GR 水平和 FT_3、FT_4 及 TSH 水平均呈负相关。我们推测:白细胞 GR 水平下降造成 Graves 的原因可能是由于 GR 水平下降,造成白细胞和 GC 的结合能力下降,从而改变白细胞的游走能力和抗炎能力,造成免疫机制的异常而诱发 Graves 甲亢。

而从 GR 水平改变和 Graves 甲亢并发症发生的关系上看,并发甲亢性突眼的患者 GR 水平进一步降低,这一研究结果和 Boyle 等[8]的研究基本相似。而安振梅等[9]报道甲亢性突眼的发病还和 GR 表达类型改变有关,hGR α/GR β mRNA 可能在 Graves 眼病发病中起着一定作用。同时本研究并未发现 GR 水平改变和并发甲亢性心脏病和并发甲亢性周期麻痹的关系,当然这不排除样本含量偏小所致。尤其是甲亢性周期麻痹,本组仅有 2 例患者。因此更为确切的结论尚待更大样本含量的研究证实。

总之,本研究证实 Graves 甲亢患者外周血白细胞 GR 水平下降,并且跟病情严重程度、是否并发甲亢性突眼者有关。这一结果也为 Graves 甲亢的发病研究提供了新的思路。

参 考 文 献

[1] Katarina S, Ludmila P, Niels E F, et al. A new link between steroid resistance, glucocorticoid receptor and nuclear factor kappa B p65 in idiopathic nephrotic syndrome[J]. Neuro Endocrinol Lett, 2009, 30(5): 629-636.

[2] Otte C, Wust S, Zhao S J, et al. Glucocorticoid receptor gene and depression in patients with coronary heart disease: The Heart and Soul Study-2009 Curt Richter Award Winner [J]. Psychoneuroendocrinology, 2009, 34(10): 1574-1581.

[3] Wang L L, Xie Y C, Hou S F, et al. Association of glucocorticoid receptor gene polymorphism with myasthenia gravis[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2009, 89(43): 3035-3037.

[4] 陈向芳,林炜栋,张汝芝,等.多发性肌炎/皮肌炎患者糖皮质激素受体与微量元素的改变及意义[J].第二军医大学学报,2007,28(7):793-796.

[5] 杨礼芳,戴如春,廖二元,等.Graves 病的病因研究进展[J].国际病理科学与临床杂志,2007,27(5):438-443.

[6] Ilia J, Elenkov. Glucocorticoids and Th1/Th2 balance[J]. Ann N Y Acad Sci, 2004, 1024: 138-146.

[7] 李琳芸,王柳燕,王昌富.糖皮质激素受体及其检测方法的研究进展[J].微循环学杂志,2005,15(3):68-71.

[8] Boyle B, Koranyi K, Patocs A, et al. Polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene in Graves ophthalmopathy[J]. British Journal of Ophthalmology, 2008, 92(1): 131-134.

(责任编辑:冉明会)