

本文引文格式:李俊峰.糖皮质激素受体基因表达与亚急性甲状腺炎相关性分析[J].
右江民族医学院学报,2023,45(3):450-453.

【论著与临床报道】

糖皮质激素受体基因表达与亚急性甲状腺炎相关性分析

李俊峰

(天津市第一中心医院内分泌科,天津 300000)

摘要:目的 分析亚急性甲状腺炎与糖皮质激素受体(GR)基因表达的相关性。方法 选取2018年4月至10月天津市第一中心医院收治的亚急性甲状腺炎患者60例,分为轻症组30例、重症组30例;同期20例健康体检者,设为对照组。采用RT-PCR方法测定各组患者GR基因表达水平,分析GR mRNA与亚急性甲状腺炎的相关性。结果 疾病轻症、重症组GR- α 的表达水平下降,GR- β 表达水平升高($P < 0.05$);亚甲炎组内比较,重症组GR- α 表达水平低于轻症组,GR- β 表达水平高于轻症组($P < 0.05$)。Spearman分析显示,性别、年龄因素与病情严重程度无关;患者病程与亚急性甲状腺炎病情严重程度存在正相关;GR- α mRNA与患者病情严重程度存在负相关;GR- β mRNA与患者病情严重程度存在正相关。Logistic回归分析显示,GR- α mRNA、GR- β mRNA是亚急性甲状腺炎的影响因素。结论 亚急性甲状腺炎的发生与发展中,GR基因表达起到重要作用。病情严重程度与GR- α mRNA、GR- β mRNA相关,可作为早期预测病情的重要指标。

关键词:亚急性甲状腺炎;糖皮质激素受体;基因表达

中图分类号:R581.4

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2023)03-0450-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.03.014

Analysis of the correlation between glucocorticoid receptor gene expression and subacute thyroiditis

Li Junfeng

(Department of Endocrinology, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the correlation between subacute thyroiditis and the expression of the glucocorticoid receptor (GR) gene. **Methods** A total of 60 patients with subacute thyroiditis admitted to the First Central Hospital of Tianjin from April to October 2018 were included in this study. The patients were divided into two groups; a mild disease group (30 cases) and a severe disease group (30 cases); Additionally, 20 healthy subjects who underwent physical examinations during the same period were included as the control group. The expression levels of the GR gene were measured using the RT-PCR method, and the correlation between GR mRNA and subacute thyroiditis was analyzed. **Results** The expression levels of GR- α were found to be decreased, while the expression levels of GR- β were increased in both the mild and severe disease groups ($P < 0.05$); Comparison between the subacute thyroiditis groups showed that the expression levels of GR- α in the severe disease group were lower than those in the mild disease group, whereas the expression levels of GR- β were higher in the severe disease group ($P < 0.05$). Spearman analysis showed that gender and age were not correlated with the severity of the disease; however, a positive correlation was observed between the duration of the disease and the severity of subacute thyroiditis. Furthermore, a negative correlation was found between GR- α mRNA expression and disease severity, whereas a positive correlation was observed between GR- β mR-

基金项目:天津市第一中心医院科技基金春风项目(CF201824)

作者简介:李俊峰(1982-),女,硕士,主任医师,研究方向:内分泌与代谢性疾病的基础与临床研究,E-mail:fredyli820602@163.com

NA expression and disease severity. Logistic regression analysis showed that GR- α mRNA and GR- β mRNA were influential factors of subacute thyroiditis. **Conclusion** GR gene expression plays a significant role in the development and progression of subacute thyroiditis. The severity of the disease is correlated with the expression levels of GR- α mRNA and GR- β mRNA, which can be used as the important indicators for early prediction of the disease.

Key words: subacute thyroiditis; glucocorticoid receptor; gene expression

亚急性甲状腺炎作为一种自限性甲状腺疾病,其发病机制目前尚不清楚,与病毒感染、自身免疫系统存在密切关系;在环境因素与遗传因素作用下,机体出现免疫反应。目前,临床对于该疾病主要使用糖皮质激素类药物^[1],并取得一定效果;但部分患者治疗效果欠佳,仍需要进一步研究。糖皮质激素(GC)作为一种内源性激素,其通过与糖皮质激素受体(GR)特异结合起到作用,其中 GR- β 与 GR- α 作为 GR 两种主要亚型,对 GC 生物学效应具有一定影响作用^[2]。其中 GR- α 以往被认为是 GC 发挥作用核心;近年来,随着研究深入,人们发现可能在激素抵抗众多因素中,GR- β 对 GR- α 潜在拮抗作用占据主导地位;激素抵抗的发生可能与 GR- β 存在密切关系。GR- α 和 GR- β 也与多种免疫疾病的临床缓解存在一定相关性^[3]。本研究纳入 2018 年 4 月至 2018 年 10 月天津市第一中心医院收治的 60 例亚急性甲状腺炎患者作为研究对象,探讨在该疾病中 GR mRNA 的表达与相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 4 月至 2018 年 10 月天津市第一中心医院收治 60 例亚急性甲状腺炎患者作为研究对象,经过伦理委员会审批,患者均签署知情同意书。本组 60 例患者中,男 23 例,女 37 例,年龄 23~60 岁,平均年龄(55.81±9.45)岁;同时选取同期 20 例健康体检者,设为对照组,其中男 8 例,女 12 例,年龄 20~63 岁,平均年龄(56.31±7.22)岁。两组患者年龄、性别等基本资料具有可比性($P>0.05$)。另将 60 例亚急性甲状腺炎患者根据病情分为两组:轻症组(30 例):①仅以非甾体抗炎药对症和/或予小剂量糖皮质激素(≤ 10 mg/d)治疗;②1 个月症状消失及化验指标恢复正常;③停药且半年内未复发。重症组(30 例):①予糖皮质激素(≥ 10 mg/d)治疗;②治疗 1 个月以上症状依然存在及化验指标异常;③半年内停药或用药期间复发。

1.2 纳入标准 ①检测前至少 3 个月未接受皮质类固醇激素、免疫抑制剂或具有免疫调节作用的药物治疗。②年龄、性别具有可比性;③全部入选患者资料完整;④入选者亚急性甲状腺炎患者,均符合《内科学》(第九版)^[4]诊断标准:有全身症状、甲状腺肿大和疼痛,实验室检查¹³¹I 摄取率和血清 T₃、T₄ 水平呈现“分

离曲线”时,诊断即可成立。⑤入选者自愿参与本研究。

1.3 排除标准 ①合并糖尿病以及其他自身免疫性疾病;②伴有支气管哮喘、炎症肠病、肿瘤等严重疾病;③中途退出或失访者;④资料不全者;⑤不愿配合研究者。

1.4 方法 所有受试者使用 RT-PCR 方法检测 GR mRNA 表达水平。

标本采集:抽取所有受试者肘静脉空腹血液 12 mL 作为标本,采集后置于 EDTA 抗凝。对标本进行离心处理,用人淋巴细胞分离液,密度离心法进行常规 PBMC 分离,总 RNA 使用 Trizol 法进行提取,RNA 完整性检测使用琼脂糖凝胶电泳测定,RNA 浓度与纯度用紫外分光光度法测定。RNA 逆转录成 cDNA:反转录根据 SYBR^RPrime ScriptTM Master Mix(Perfect Real Time) RT-PCR 试剂盒说明书进行, RNase FreedH₂O(6 μ L)+TotalRNA(2 μ L)+5 * Prime Script RTMaster Mix(2 μ L)反应体系,PCR 仪器运行:按照 37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5 s,4 $^{\circ}$ C 保存等程序进行。

荧光定量 PCR:引物设计软件 Primer Premier 5.0 设计合成了 GR- α 、GR- β 两对引物,GR- β 引物(上游:5'-GAAGGAACTCCAGCCAGAA-3';下游 5'-CCACATAACATTTTCATG-CATACA-3'); GR- α 引物(上游:5' CTATGCATGAAGTGGTTGAAA-3';下游:5'-TTTCAGCTAACATCTCGGG-3')宝生物工程(大连)有限公司(大连 TaKaRa 公司)。相关操作依照 SYBR^RPrime ScriptTM Master Mix RT-PCR 试剂盒说明书完成相关操作,根据荧光定量扩增仪 Light Cycler 说明书操作,组成 PCR 反应体系:dH₂O(6 μ L)+cDNA 溶液(2 μ L)+Rox Reference Dye(50 *)(0.4 μ L)+10 μ mol/L PCR Reverse Primer(0.8 μ L)+10 μ mol/L PCR Forward Primer(0.8 μ L)+2 * SYBR^R Premix ExTaqTM(10 μ L),Q-PCR 反应条件:依照 95 $^{\circ}$ C 30 s,90 $^{\circ}$ C 5 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,循环 40。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素分析,两两比较采用 LSD 检验,使用 Spearman 分析 GR mRNA 与病情严重程度相关性,多因素 Logistic 回归分析 GR mRNA

NA 与亚急性甲状腺炎相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对比 GR mRNA 表达水平 与对照组对比, 轻症组、重症组患者 GR- α 表达水平下降, GR- β 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 亚急性甲状腺炎患者组内比较, 重症组患者 GR- α 表达水平低于轻症组, 而 GR- β 表达水平高于轻症组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 比较亚急性甲状腺炎患者与正常组中 GR mRNA 表达水平

组别	<i>n</i>	GR- α mRNA	GR- β mRNA
轻症组	30	0.53±0.08 ^a	0.13±0.03 ^a
重症组	30	0.44±0.10 ^{ab}	0.15±0.04 ^{ab}
对照组	20	0.63±0.12	0.11±0.03
<i>F</i>		20.453	8.734
<i>P</i>		<0.001	<0.001

注: ①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示; ②与对照组比较, a: $P < 0.05$; 重症与轻症组比较, b: $P < 0.05$ 。

2.2 分析 GR mRNA 与亚急性甲状腺炎病情严重程度 将患者年龄、性别、病程、GR mRNA 等纳入 Spe-

arman 分析, 结果显示, 患者性别、年龄等与亚急性甲状腺炎病情严重程度无相关性 ($P > 0.05$); 患者病程与亚急性甲状腺炎病情严重程度存在弱正相关; GR- α mRNA 与患者病情严重程度存在中等强度负相关; GR- β mRNA 与患者病情严重程度存在中等强度正相关。见表 2。

表 2 Spearman 分析 GR mRNA 与病情严重程度相关性

因素	r_s	<i>P</i>
GR- α mRNA	-0.574 ^a	<0.001
GR- β mRNA	0.431 ^b	<0.001
性别	0.081	0.457
年龄	0.012	0.916
病程	0.241 ^b	0.031

注: 0.4 < r / < 0.7 为中度相关, a: $r_s < 0$ 为负相关, b: $r_s > 0$ 为正相关, 0.2 < r / < 0.4 为弱相关, c: $r_s > 0$ 为正相关。

2.3 分析 GR mRNA 表达水平与亚急性甲状腺炎相关性 以 GR- α mRNA、GR- β mRNA 为自变量, 以是否发生亚急性甲状腺炎为因变量, 进行二分类 Logistic 回归分析, 入选标准为 $P \leq 0.05$, 剔除标准为 $P > 0.10$, 结果显示, GR- α mRNA、GR- β mRNA 是亚急性甲状腺炎的影响因素。见表 3。

表 3 多因素 Logistic 回归分析 GR mRNA 与亚急性甲状腺炎相关性

因素	β	SE	Wald	<i>P</i>	OR	95% CI
GR- α mRNA	-0.116	0.035	10.983	0.891	0.001	0.832~0.954
GR- β mRNA	0.207	0.093	4.988	1.230	0.025	1.026~1.476
常量	4.882	2.255	4.688	131.885	0.030	

3 讨论

亚急性甲状腺炎是临床内分泌科常见疾病, 是甲状腺的一种自限性炎性疾病, 常伴有无痛性或疼痛性腺体肿胀和躯体体征或症状。多见于中年妇女人群; 近年来, 其发病率不断升高, 对患者身体健康造成严重影响。该病症主要表现为甲状腺肿痛, 部分患者可出现肌肉疼痛、乏力、发热等症状; 该病症临床表现复杂、多样, 存在较高的漏诊率, 容易错过最佳治疗时机; 一般情况, 发病后可在 3~4 d 达到峰值, 病情可延长至数月。其发病机制复杂多样, 与患者免疫水平、病毒感染等存在密切关联。临床较为常见病毒, 如腮腺炎病毒抗体、流感病毒抗体、柯萨奇病毒抗体等。炎症反应会破坏甲状腺滤泡细胞, 导致储存的 T4 和 T3 快速释放, 形成初期的甲状腺毒性阶段, 随后通常会发生暂时或永久性的甲减。虽然亚急性甲状腺炎常与病毒感染有关, 但尚未确定感染源。亚急性甲状腺炎可能是由于遗传易感者被病毒感染所引起的。亚急性甲状腺炎

相较于其他疾病易发生误诊^[4]。必要时需采用多种诊断性检查, 包括实验室检查、超声成像和放射性核素显像^[5]。根据疾病的不同阶段, 甲状腺显像可有不同表现, 在甲状腺功能亢进期, 甲状腺的显像剂摄取量极低或没有, 到恢复后期时, 甲状腺显像恢复正常。由于亚急性甲状腺炎是自限性的, 治疗目的主要为缓解疼痛。大剂量非甾体类抗炎药通常是一线治疗药。如果剧烈疼痛持续, 可能需要 1 个疗程的皮质类固醇治疗。高达 15% 的亚急性甲状腺炎患者会出现永久性甲减, 甚至在发病 1 年后才出现。甲状腺功能检查在甲状腺疾病的诊断中具有十分重要的意义^[6]。该病症具有早期隐匿, 病情进展快等特点。发病早期积极治疗, 可取得较为满意的效果。但实际临床中, 部分患者易错过最佳治疗时机, 使得糖皮质激素类药物, 并不能取得理想效果。

亚急性甲状腺炎作为自身免疫性疾病, 临床关于其作用机制等相关研究越来越多; 国内学者祁岗等^[7]

利用 CBA/j 小鼠建立自身免疫性甲状腺炎模型,经过 2 次加强 HE 染色后,发现小鼠甲状腺组织逐渐出现炎症反应,在甲状腺炎发病过程中,逐渐激活炎症相关信号通路,炎症因子、免疫反应等起到重要作用。GC 属于一种类固醇激素,在细胞的发育、生理改变等过程中起到关键性作用,如免疫反应、物质代谢、生长调节及炎症反应等。据大量研究显示,在 GC 与 GR 受体结合后,可对多种细胞凋亡具有促进作用,如骨髓瘤细胞、淋巴瘤细胞、白血病细胞等。在糖皮质激素治疗中,GR 靶向疗法,保留 Gcs 的治疗潜力和更少的不良反应,因其高度相关性而引起广泛关注^[8]。在结直肠上皮 GR 可以作为结直肠癌风险和预后的预测标志物^[9],在亚急性甲状腺炎组织中存在 GR 表达,但关于 GR mRNA 表达水平与亚急性甲状腺炎相关性方面,少见文献报道。

GR- α 与 GR- β 属于 GR 的两种亚型,GR 属于核转录因子,是保守的核受体超家族成员之一,包括多种受体,如维生素 D 受体、甲状腺激素受体、盐皮质激素受体等,被激活后其基因转录调控通过与核内靶基因上 DNA 序列结合完成,进而起到生物学效果。GC 作为治疗亚急性甲状腺炎药物,其主要通过 GR 介导调节淋巴细胞的循环,进而诱导清除 CD4⁺ 淋巴细胞;同时,生物剂量 GC 将对 T 细胞增生、AP-1 与核因子 NF κ B 诱导基因转录等具有抑制作用,对干扰素 (IFN)- γ 、细胞因子、淋巴细胞活性释放与产生具有抑制作用。但临床中,糖皮质激素难治性亚急性甲状腺炎的治疗一直被探讨^[10],不同患者疗效存在差异,可能与亚急性甲状腺患者个体差异及个体 GR 表达水平存在一定相关性,糖皮质激素难治性亚急性甲状腺炎 GR- α 与 GR- β 属于 GR 的两种亚型,其中 GR- β 有抑制 GR- α 活性的负性调节作用,GR- α 是介导 GC 作用的主要成分。通常情况下,细胞中 GR- α mRNA 占据主导,其占据 GR mRNA 绝大部分,呈现出高表达;而 GR- β mRNA 正常情况下细胞中表达水平较低,仅占总 GR mRNA 0.12%~0.13%,其分布广泛。本研究显示,与正常组对比,轻症组、重症组患者 GR- α 表达水平下降,GR- β 表达水平升高,进一步证实 GR mRNA 在亚急性甲状腺炎患者中呈现出异常表达,而 GR- β mRNA 呈现高表达,GR- α mRNA 呈现出低表达。可能因 GC 抵抗造成 GR- β mRNA 表达异常升高。经多因素 Logistic 回归分析,GR- α mRNA、GR- β mRNA 与亚急性甲状腺炎有关,说明在亚急性甲状腺炎的发生发展中,GR- α 与 GR- β 起到重要作用。此外,Spearman 分析显示,患者病程与亚急性甲状腺炎

病情严重程度有关;GR- α mRNA 与患者病情严重程度存在中等强度负相关,说明 GR- α 表达越低患者病情越严重;GR- β mRNA 与患者病情严重程度存在中等强度正相关,说明 GR- β 表达越高患者病情越重。本研究纳入研究对象较少,且研究仅对 GR 基因表达分析,并未对治疗前后患者 GR 基因表达水平进行分析;研究存在一定局限性,仍需要大数据作为支持。

综上,亚急性甲状腺炎疾病的发展中,与 GR 基因表达存在密切相关性;GR- α 与 GR- β mRNA 可作为预测患者病情的重要指标。

参考文献:

- [1] 陈灏珠,钟南山,陆再英,等.内科学[M].9版.北京:人民卫生出版社,2018:692-693.
- [2] KUBIN M E, HÄGG P M, KOKKONEN N, et al. Expression of glucocorticoid receptors GR α and GR β in bullous pemphigoid[J]. Acta Derm Venereol, 2016, 96(7): 922-926.
- [3] 孙艳玲,谢华,林洪丽,等.特发性膜性肾病患者外周血单个核细胞中 GR α 和 GR β 的表达与临床缓解的相关性[J].中国免疫学杂志,2019,35(12):1500-1504.
- [4] 蔡文娟,苗新宇,张建中,等.成人梨状窝瘘致化脓性甲状腺炎误诊为亚急性甲状腺炎 1 例[J].中华内科杂志,2022,61(9):1062-1065.
- [5] GIULIANO M, MASSIMO T, MARIANO G, 等.核医学在甲状腺良性疾病临床处置中的应用(第 2 部分):结节性甲状腺肿、甲状腺功能减退症和亚急性甲状腺炎[J].中华核医学与分子影像杂志,2022,42(11):696-704.
- [6] 汪慧芸.血清 TgAb、TPOAb、TSH 检测在良恶性甲状腺结节鉴别诊断中的临床意义[J].右江民族医学院学报,2021,43(1):96-98,116.
- [7] 祁岗,朱艳媚,李玉娟,等.基于 NF- κ B 通路研究自身免疫性甲状腺炎发病过程中相关因子的表达变化[J].广东医学,2019,40(3):329-334.
- [8] LESOVAYA A, CHUDAKOVA D, BAIDA G, et al. The long winding road to the safer glucocorticoid receptor (GR) targeting therapies[J]. Oncotarget, 2022, 13: 408-424.
- [9] TANG S, ZHANG Z, OAKLEY R H, et al. Intestinal epithelial glucocorticoid receptor promotes chronic inflammation-associated colorectal cancer[J]. JCI Insight, 2021, 6(24):e151815.
- [10] 朱静,浦晓佳,张晓懿,等.临床免疫学干预对糖皮质激素难治性亚急性甲状腺炎患者的疗效[J].中华核医学与分子影像杂志,2019,39(8):484-487.

收稿日期:2022-10-27;修回日期:2022-12-19