

甲亢宁胶囊对 Graves 病小鼠甲状腺功能及 Akt/mTOR 信号通路的影响

李青穆^{1△} 魏军平² 李 敏² 孟淑华³

摘要 目的 观察甲亢宁胶囊干预下 Graves 病小鼠甲状腺功能的改善情况及 Akt、磷酸化 Akt (p-Akt)、雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 及磷酸化 mTOR (p-mTOR) 表达变化,探讨甲亢宁胶囊治疗 Graves 病可能的分子机制。**方法** 用表达促甲状腺激素受体 (thyroid stimulating hormone receptor) A 亚单位的重组腺病毒 (Ad-TSHR α -289) 免疫 BALB/c 雌鼠建立 Graves 病动物模型。将 70 只造模成功小鼠按随机数字表法分为模型组 (20 只)、甲亢宁胶囊干预组 (中药组, 25 只)、甲巯咪唑片干预组 (西药组, 25 只), 另设正常对照组 (正常组, 15 只) 和空载病毒对照组 (空载组, 20 只, 注射 Ad-null)。中药组予 1.5 g/(kg·d) 甲亢宁胶囊混悬液灌胃, 西药组予 2.5 mg/(kg·d) 甲巯咪唑混悬液灌胃, 其余各组每日予同体积生理盐水灌胃, 药物干预 5 周。各组最终选取 6 个样本, 观察小鼠甲状腺组织的病理变化; 放射免疫法测定小鼠血清甲状腺素 (thyroxine, T4), 三碘甲状腺素原氨酸 (triiodothyronine, T3), 促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH) 及促甲状腺激素受体抗体 (thyrotropin receptor antibody, TRAb) 水平; Western blot 法测定小鼠甲状腺组织 Akt、p-Akt、mTOR 及 p-mTOR 的表达量。**结果** (1) 模型组甲状腺呈增生性改变, 滤泡增大, 大小不一, 间质血管浸润。中药和西药组甲状腺组织结构明显恢复, 滤泡增生有所缓解。(2) 与正常组、空载组比较, 模型组 TRAb、T4 及 T3 水平升高 ($P < 0.01$), p-Akt/ β -actin、p-Akt/Akt、p-mTOR/ β -actin 及 p-mTOR/mTOR 比值均升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 中药和西药组 TRAb、T4 及 T3 水平均降低 ($P < 0.01$), 中药组 p-mTOR/ β -actin、p-mTOR/mTOR 比值均降低 ($P < 0.01$), 西药组 p-Akt/ β -actin、p-Akt/Akt、p-mTOR/ β -actin 及 p-mTOR/mTOR 比值均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 甲亢宁胶囊能降低 Graves 病小鼠甲状腺激素水平, 降低 mTOR 的表达, 其改善 Graves 病小鼠甲状腺功能的机制可能与这一影响有关。

关键词 甲亢宁胶囊; Graves 病; 蛋白激酶 B/雷帕霉素靶蛋白信号通路

Effect of Jiakangning Capsule on Thyroid Function and Akt/mTOR Signal Pathway of Graves' Disease Mice: an Experimental Study LI Qing-mu¹, WEI Jun-ping², LI Min², and MENG Shu-hua³
1 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 Department of Endocrinology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100053); 3 Graduate School, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100700)

ABSTRACT Objective To observe the improvement of thyroid function and changes of Akt, p-Akt, mammalian target of rapamycin (mTOR), and para-mTOR (p-mTOR) expression in Graves' disease (GD) mice after intervened by Jiakangning Capsule (JC), and to explore possible mechanism for JC in treating GD. **Methods** GD model was established by immunizing female BALB/c mice with thyroid stimulating hormone receptor A subunit (Ad-TSHR α -289). Totally 70 successfully modeled mice were divided into the model group ($n = 20$), the JC intervened group ($n = 25$), the Methimazole Tablet intervened

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81173260)

作者单位: 1. 北京中医药大学研究生院 (北京 100029); 2. 中国中医科学院广安门医院内分泌科 (北京 100053); 3. 中国中医科学院研究生院 (北京 100700)

通讯作者: 魏军平, Tel: 010-88001218, E-mail: weijunping@126.com

Δ 现在单位: 北京中医药大学第三附属医院 (北京 100029)

DOI: 10.7661/CJIM.2015.09.1119

group ($n=25$) according to random digit table. A normal control group ($n=15$) and a vehicle control group ($n=20$, injected with Ad-null) were also set up. Mice in the JC intervened group were administered with JC suspension at the daily dose of 1.5 g/kg by gastrogavage. Mice in the Methimazole intervened group were administered with Methimazole suspension at the daily dose of 2.5 g/kg by gastrogavage. Equal volume of normal saline was administered to mice in the rest 3 groups by gastrogavage. All intervention lasted for 5 weeks. Six mice were selected from each group to observe pathological changes of thyroid tissues. Serum levels of thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), thyroid stimulating hormone (TSH), and thyrotropin receptor antibody (TRAb) were analyzed by radioimmunoassay. Expression levels of Akt, p-Akt, mTOR, and p-mTOR in thyroid tissues were determined by Western blot. Results (1) The thyroid gland in the GD model group showed proliferative changes, with enlarged follicles of various sizes. Interstitial stroma was filled with blood vessels. Structures of thyroid tissues in the JC intervened group and the Methimazole intervened group were significantly restored, and follicular hyperplasia was relieved. (2) Compared with the normal control group and the vehicle control group, levels of TRAb, T_4 , and T_3 increased; ratios of P-Akt/ β -actin, p-Akt/Akt, p-mTOR/ β -actin, and p-mTOR/mTOR also increased in the model group (all $P < 0.01$). Compared with the model group, levels of TRAb, T_4 , and T_3 decreased in the JC intervened group and the Methimazole intervened group ($P < 0.01$); ratios of p-mTOR/ β -actin and p-mTOR/mTOR decreased in the JC intervened group ($P < 0.01$); ratios of P-Akt/ β -actin, p-Akt/Akt, p-mTOR/ β -actin, and p-mTOR/mTOR decreased in the Methimazole intervened group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Conclusion JC could reduce thyroid hormone levels of GD mice and lower expression levels of mTOR, and its mechanism for improving thyroid function of GD mice might be associated with this influence.

KEYWORDS Jiakangning Capsule; Graves' disease; Akt/mTOR signaling pathway

Graves 病 (Graves' disease, GD) 亦称毒性弥漫性甲状腺肿, 作为一种多基因遗传的器官特异性自身免疫疾病, 是发生甲亢最常见的病因, 占全部甲状腺功能亢进症的 85% 以上。青中年女性发病多见, 在人群中的患病率约为 1% ~ 2%^[1]。GD 的诊断标准包括^[2]: (1) 临床甲亢症状和体征; (2) 甲状腺肿大; (3) 血清促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH) 浓度降低, 甲状腺激素 (thyroxine T_4) 浓度升高; (4) 突眼或其他浸润性眼征; (5) 胫前黏液性水肿; (6) 促甲状腺激素受体抗体 (thyrotropin receptor antibody, TRAb) 阳性。在目前关于 GD 发病机制的共识中, TRAb 异常增高是其自身免疫发病的重要环节。甲亢宁胶囊是根据滋阴潜阳、化痰散结法拟定的抗甲状腺功能亢进类中药复方, 临床实践和前期实验中均已证实其对于改善甲状腺功能、缓解甲状腺肿大具有良好疗效^[3,4]。为进一步探讨中药的分子生物学作用机制, 本实验针对 TRAb 产生后的作用环节, 即信号在甲状腺细胞内的传导, 研究中药甲亢宁能否通过这种途径发挥治疗作用。

材料与方法

1 动物 160 只 BALB/c 雌性小鼠, SPF, 4 ~

6 周龄, 体重 18 ~ 20 g, 由中国中医科学院广安门医院动物房提供, 许可证号: SYXK (京) 2009 - 0034。动物饲养环境恒温恒湿, 采用标准鼠饲料和自来水喂养。

2 药物 甲亢宁胶囊 (中国中医科学院广安门医院制药厂生产 GCP, 0.45 g/粒, 批准文号: 京药制字 Z20063194 号, 主要成分为牡蛎、玄参、连翘、半夏、夏枯草、山慈菇、土贝母、土茯苓), 每粒胶囊含生药 0.45 g, 将胶囊内药物倾入离心管, 加 Milli-Q 纯水振荡混匀配制成 15% 混悬液, 4 °C 冰箱保存备用。甲疏咪唑片 (10 mg/片, 德国默克公司, 注册证号: H20120405), 用 Milli-Q 纯水配制成混悬液, 4 °C 冰箱保存备用。

3 试剂及仪器 主要试剂: 表达 TSHR-A 亚单位的重组腺病毒 (Ad-TSHR α - 289) 及空载病毒 (Ad-null) 由北京诺赛基因组研究中心有限公司构建并扩增纯化; 血清 TRAb 放射受体分析试剂盒 (协和医药科技集团有限公司), 甲状腺素放射免疫分析药盒、三碘甲腺原氨酸 (triiodothyronine, T_3) 放射免疫分析药盒、TSH 放射免疫分析药盒 (原子高科股份有限公司), BCA 蛋白定量试剂盒 (CWBio), 磷酸化 Akt (p-Akt) 二抗体、Akt 二抗体、p-mTOR 二抗体、雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin)

cin, mTOR) 二抗体 (CST), β -actin 二抗体 (中杉金桥), HRP 标记山羊抗兔 IgG、HRP 标记山羊抗鼠 IgG (Jackson, 美国)。主要仪器: 低温高速离心机 (Thermo, 美国), Milli-Q 超纯水器 (Millipore, 美国), 超净工作台 (Airteeh, 美国), $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱 (Thermo, 美国), XW-80A 旋涡混合器 (上海医科大学仪器厂), SMZ-168 体视显微镜 (Motic 麦克奥迪, 厦门), BX-41 荧光显微镜 (Olympus, 日本), GC-400 γ 放射免疫计数器 (安徽中科中佳科学仪器有限公司), EG1160 石蜡包埋机 (Leica, 德国), H93/RM2126 石蜡切片机 (德国)。

4 动物分组及模型制备 参照文献[5]。160 只小鼠分为正常对照组 15 只 (正常组), 无处理常规饲养; 空载病毒对照组 (空载组, 20 只), 注射 Ad-null; GD 模型组造模组 (模型组, 125 只), 注射 Ad-TSHR α -289。注射免疫的剂量均为 10^8 PFU/50 μL PBS。于小鼠单侧股外侧肌肉注射, 每 3 周免疫 1 次, 共 3 次, 于第 3 次免疫后 4 周行眼眶后静脉丛取血, 3 000 r/min $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心取上清, 检测血清 TRAb、T4 浓度。以放射受体分析法检测 TRAb, 放射免疫分析法检测 T4。以 Ad-null 组测定的值为正常范围^[5], TRAb 正常范围为 2.38~4.49 U/mL, T4 正常范围 28.16~111.45 ng/mL。模型的鉴定以 TRAb、T4 双指标同时超出正常上限为标准, GD 组中符合鉴定标准者进入下一阶段药物干预。造模后成模小鼠 70 只, 未成模 55 只, 成模率 56%。将造模成功的 70 只小鼠按随机数字表法分为模型对照组 (模型组, 20 只)、甲亢宁干预组 (中药组, 25 只)、甲巯咪唑干预组 (西药组, 25 只)。

5 干预方法 中药组以 1.5 g/(kg $\cdot$ d) (相当于成人重量每日用量的 15 倍) 给予甲亢宁混悬液灌胃; 西药组以 2.5 mg/(kg $\cdot$ d) (相当于成人重量每日用量的 15 倍) 给予甲巯咪唑混悬液灌胃^[6]; 模型组、空载组、正常组均每日给予同体积生理盐水灌胃; 各组均连续灌胃给药 5 周。给药期间出现动物死亡情况, 至末次给药各组剩余小鼠分别为: 模型组 13 只、中药组 14 只、西药组 12 只、正常组 15 只和空载组 20 只。末次给药后对全部小鼠眼球摘除取血, 分离血清 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测, 处死后剥离甲状腺, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存待测。

6 检测指标及方法

6.1 甲状腺组织病理学观察 每组选取 6 个标本用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片, HE 染色, 光镜下观察。

6.2 血清 TRAb、T4、T3 及 TSH 水平检测 以小鼠血清为标本, 选取与检测蛋白指标同一动物的血

清 (即 6.3 中的 6 个样本) 作为统计分析数据来源。采用放射受体分析法检测 TRAb 浓度, 放射免疫分析法检测 T4、T3 及 TSH 浓度, 具体操作按试剂盒说明书进行。

6.3 检测 Akt、p-Akt、mTOR 及 p-mTOR 蛋白表达 每组选取 6 个甲状腺标本, 采用 Western blot 蛋白印迹法检测。将甲状腺组织加入 100 μL RIPA 裂解液进行匀浆, 冰上孵育 20 min 后, 13 000 r/min $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心 20 min, 取上清待测。按 BCA 蛋白定量试剂盒说明测定蛋白浓度。于 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min 煮沸使蛋白变性, 保存待测。进行 SDS-PAGE (蛋白样品上样量为 30 μg /孔), 湿转法转至 0.45 μm PVDF 膜。5% BSA-TBST 封闭, 水平摇床孵育 1 h。加一抗 (稀释比例 1:1 000), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 摇床孵育过夜。TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。加入二抗 (稀释比例 1:10 000), 室温孵育 40 min。再用 TBST 洗膜 10 min, 3 次。滴加 ECL 反应 3~5 min, 胶片曝光、显影、定影。扫描图像并用 Gel-Pro Analyzer 3.0 软件进行条带分析。测得各组小鼠甲状腺组织中 p-Akt、Akt、p-mTOR 及 mTOR 表达量, 计算各表达量与内参值的比值 (p-Akt/ β -actin、p-mTOR/ β -actin) 以及各磷酸化表达量与总表达量的比值 (p-Akt/Akt、p-mTOR/mTOR), 通过比值比较各组间的蛋白表达水平。

7 统计学方法 应用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析, 数据符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 LSD。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 甲状腺组织 HE 染色 (图 1) 正常组可见甲状腺滤泡上皮细胞成扁平状, 排列整齐, 滤泡中充满均匀、较深的红色胶质, 滤泡间质无充血。空载组滤泡稍大, 结构形态与正常组基本一致。模型组甲状腺增生改变, 滤泡体积明显增大, 大小不规则, 上皮细胞成立方状或高柱状, 滤泡间质有血管浸润, 滤泡腔内胶质染色较淡, 有乳头状结构向内突出, 未见明显淋巴细胞浸润。中药组、西药组显示用药干预后的甲状腺组织结构明显恢复, 滤泡增生有所缓解。

2 各组小鼠血清 TRAb、T4、T3 及 TSH 水平比较 (表 1) 与正常组、空载组比较, 模型组 TRAb、T4 及 T3 均升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中药组和西药组 TRAb、T4、T3 均降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。各组间 TSH 比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

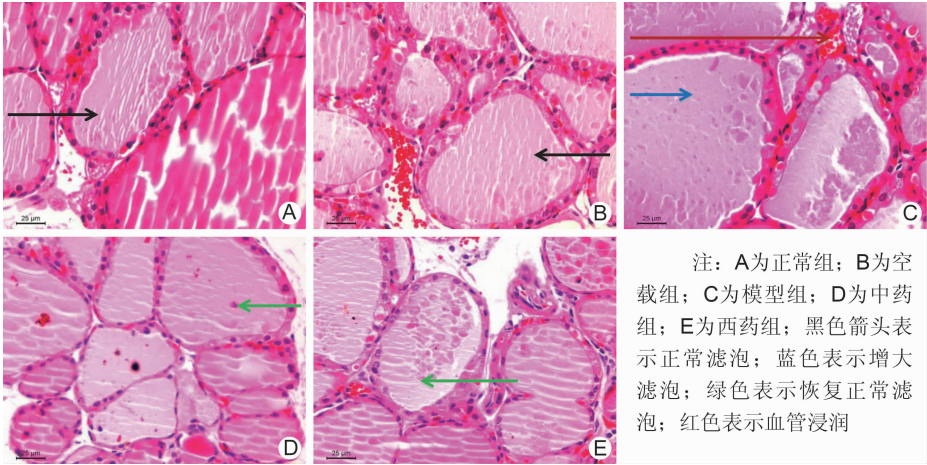


图 1 各组甲状腺组织浸润病理观察结果 (HE, ×400)

表 1 各组小鼠血清 TRAb、T4、T3 及 TSH 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TRAb (U/mL)	T4 (ng/mL)	T3 (ng/mL)	TSH (mIU/L)
正常	6	0.02 ± 0.01 *	74.79 ± 3.80 *	0.49 ± 0.10 *	0.95 ± 0.10
空载	6	0.03 ± 0.03 *	73.71 ± 6.02 *	0.52 ± 0.15 *	0.97 ± 0.22
模型	6	41.61 ± 28.63	122.18 ± 16.63	3.07 ± 0.64	0.90 ± 0.12
中药	6	5.69 ± 3.81 *	64.21 ± 19.53 *	0.98 ± 0.57 *	0.94 ± 0.20
西药	6	12.11 ± 6.30 *	75.72 ± 17.86 *	1.23 ± 0.42 *	0.94 ± 0.08

注:与模型组比较, * $P < 0.01$

3 各组小鼠甲状腺组织 Akt 表达比较(表 2,图 2) 与正常组、空载组比较,模型组 p-Akt/β-actin/及 p-Akt/Akt 比值升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,中药组 p-Akt/β-actin/及 p-Akt/Akt 差异均无统计学意义($P > 0.05$),西药组检测指标值均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 各组小鼠甲状腺组织 Akt 相对表达量

组别	n	p-Akt/β-actin	p-Akt/Akt
正常	6	0.22 ± 0.05 **	0.43 ± 0.08 **
空载	6	0.21 ± 0.03 **	0.42 ± 0.06 **
模型	6	0.33 ± 0.06	0.66 ± 0.10
中药	6	0.29 ± 0.05	0.57 ± 0.10
西药	6	0.27 ± 0.04 *	0.53 ± 0.07 *

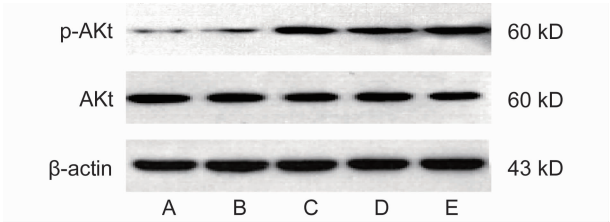
注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 各组小鼠甲状腺组织 mTOR 表达比较(表 3, 图 3) 与正常组、空载组比较,模型组 p-mTOR/β-actin/及 p-mTOR/mTOR 比值升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,中药组和西药组 p-mTOR/β-actin/及 p-mTOR/mTOR 比值均降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),中药和西药组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组小鼠甲状腺组织 mTOR 相对表达量比较

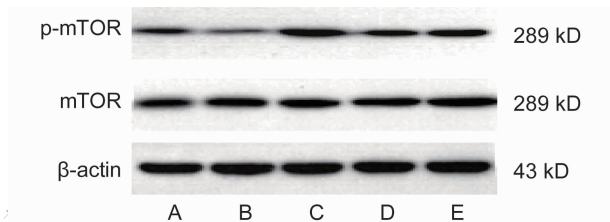
组别	n	p-mTOR/β-actin	p-mTOR/mTOR
正常	6	0.32 ± 0.02 *	0.62 ± 0.01 *
空载	6	0.31 ± 0.02 *	0.61 ± 0.03 *
模型	6	0.42 ± 0.05	0.82 ± 0.11
中药	6	0.36 ± 0.05 *	0.69 ± 0.08 *
西药	6	0.34 ± 0.03 *	0.67 ± 0.09 *

注:与模型组比较, * $P < 0.01$



注:A 为正常组;B 为空载组;C 为模型组;D 为中药组; E 为西药组

图 2 各组 Akt 蛋白表达电泳图



注:A 为正常组;B 为空载组;C 为模型组;D 为中药组; E 为西药组

图 3 各组甲状腺组织 mTOR 蛋白电泳图

讨 论

GD 的发病机制尚不明确,目前认为其发病基础有遗传易感性、环境刺激、自身免疫三方面因素^[7]。自身免疫的紊乱发生机体将促甲状腺激素受体(thyroid stimulating hormone receptor, TSHR)识别为自身抗原,合并 T、B 淋巴细胞、细胞因子的参与,产生了致病性的自身抗体即 TRAb。TSHR 位于甲状腺滤泡上皮细胞膜上,TRAb 与 TSHR 结合产生类似 TSH 的作用,刺激甲状腺细胞加速生长和激素分泌功能增强,造成弥漫性甲状腺肿大和甲状腺毒症临床效应^[8]。TRAb 含量的异常增高是 GD 的发病关键,对于初发未治的 GD 患者,一般血清中 TRAb 的检出率可达 90% 以上,是诊断 GD 的特异性指标^[9]。Aleksi A 等^[10]研究发现 TRAb 对 GD 诊断的灵敏度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别达到 100%、97%、98% 及 100%。Smith J 等^[11]将 GD 患者的 TRAb 与 T₃、T₄、FT₃、FT₄、TSH 测定值进行相关分析,结果显示无相关性,说明 TRAb 虽然可以作为诊断 GD 的特异性指标,但却并不能反映甲状腺的功能状态,即其含量与甲状腺激素水平和甲状腺肿大程度并无直接关联。因此本研究着眼于 TRAb 与 TSHR 结合后的作用点,研究中药对于信号在甲状腺细胞内的转导是否发挥了抑制作用。

Akt 信号通路是调控细胞代谢的重要信号转导途径,具有调控细胞的增殖、凋亡、分化、代谢、分泌等多种功能,已被证明与甲状腺肿瘤密切相关^[12]。在正常甲状腺细胞中,TSH 是细胞分化和凋亡的主要调节者。GD 中,TRAb 的高水平存在替代了 TSH 的作用,打乱了负反馈调节平衡。经由 TRAb 的介导,TSHR 接收信号后激活酪氨酸激酶信号系统的级联反应,经 Gαq、PI3K 的 p85 亚基与 p110 亚基结合,催化位于膜内表面的 PIP2 水解为第二信使 PIP3。PIP3 与 Akt 的 PH 结构域结合,使 Akt 发生质膜转位和构象改变,其中间催化域的 Ser473 和 Thr308 位点被磷酸化,使 Akt 被充分激活^[13]。活化的 Akt 可刺激或抑制多种下游底物蛋白的表达,mTOR 是其重要底物之一。Akt 可以直接磷酸化 mTOR,也可以间接通过 TSC1/2 和 Rheb 的作用使其激活^[14]。mTOR 再将信号下传,催化其下游的两条信号通路发挥对 mRNA 翻译的调节作用^[15]。当该信号通路过度活化时,将引起与增殖相关基因 mRNA 的大量转录,同时相关蛋白合成亦随之增加。另一方面,活化的 Akt 可以阻碍 p53 功能、使凋亡通路成分磷酸化而失活、阻碍细胞色

素 C 释放、激活 NF-λB 抗凋亡通路,从而抑制细胞凋亡甚至导致分化异常等现象^[16]。

甲状腺功能亢进症主要归属中医学“瘰癧”范畴,历代医家主要以气滞、痰凝、血瘀壅结颈前为基本病机论治,现代医家认为甲亢的病机在虚实两端,以阴虚、气虚、阳虚为主的本虚和以气滞、火旺、痰凝、血瘀为主的标实之证。本课题前期临床研究发现,甲亢病程中往往表现出明显的火旺兼动风的阴虚阳亢之象,阴虚阳亢证候是甲亢患者的基本证候,故依照标本兼顾的原则提出滋阴潜阳、化痰散结的基本治法^[3]。基于此研制甲亢宁胶囊。方中牡蛎平肝滋阴潜阳、软坚散结为君;玄参滋阴清热生津,佐牡蛎散结为臣,阴液足则阳自潜;甲状腺肿为痰凝所致,当化痰、软坚散结,故加连翘、山慈菇以加强散结之力,诸药合用共奏滋阴潜阳化痰散结之功。

本研究采用目前较为广泛认可的 Ad-TSHRα-289 腺病毒免疫诱导 GD 动物模型^[16],其甲状腺激素水平、TRAb 含量及组织学特征和甲状腺毒症表现等均与 GD 的特征良好吻合,且在实验全程时间内稳定保持了模型特征。从给药 5 周后的甲状腺功能水平来看,药物干预使中西药组 T₄、T₃、TRAb 水平明显下降,提示中西药均有降低甲状腺激素和调节免疫的作用,且两组间药效差异无统计学意义。由于血清 TSH 的变化往往迟于甲状腺激素,恢复正常所需的时间更长,故在 5 周给药后各组间 TSH 水平未表现出明显差异。这也反映了给药后使机体的甲状腺功能有所恢复,但下丘脑—垂体—甲状腺轴的恢复还需要更长的时间。GD 存在甲状腺细胞的增殖过度、凋亡减少,本研究发现:与正常组比较,模型组的甲状腺中磷酸化的 Akt 和 mTOR 表达水平均明显升高,说明 GD 的发病存在 Akt 通路的过度激活。甲亢宁胶囊干预后,Akt 的表达变化有下降趋势,但差异无统计学意义,可能与较小的样本量下实验操作中的误差有关,但作为其下游因子的 mTOR 表达水平明显下降,说明甲亢宁胶囊可能作用于 Akt/mTOR 通路,并对其关键因子 Akt 和 mTOR 的表达有影响,这可能是中药发挥治疗作用的靶点之一。

参 考 文 献

- [1] Weetman AP. Graves' disease[J]. N Engl J Med, 2000, 343(17): 1236-1248.
- [2] 《中国甲状腺疾病诊治指南》编委会. 中国甲状腺疾病诊治指南[M]. 中华医学会内分泌学分会, 2008: 14.
- [3] 林兰,李鸣镝,刘喜明,等. 中药甲亢宁治疗阴虚阳亢型甲状腺功能亢进症的临床研究[J]. 中国中西医结合杂

- 志, 1999, 19(3): 144 - 147.
- [4] 李鸣镝, 林兰, 刘颖, 等. 中药甲亢宁对甲亢患者甲状腺激素水平影响的动态观察[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(6): 680 - 682.
- [5] 赵泽飞, 王曙, 崔九兰, 等. 表达 TSHR-A 亚单位的腺病毒免疫 BALB/c 雌性小鼠建立甲亢模型[J]. 现代免疫学, 2008, 28(3): 229 - 232.
- [6] 林兰, 李鸣镝, 刘喜明, 等. 甲亢宁对甲亢大鼠甲状腺激素及心钠素的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2005, 11(1): 34 - 35.
- [7] 王曙, 郭华. Graves 病的发病机制[J]. 内科理论与实践, 2010, 5(2): 153 - 159.
- [8] 王悦, 伍丽萍, 施秉银. Graves 病动物模型研究进展[J]. 医学综述, 2012, 18(10): 1455 - 1457.
- [9] 伍宁玲, 吕朝晖, 杜锦, 等. 促甲状腺激素受体抗体在 Graves 病中的诊断价值[J]. 解放军医学杂志, 2010, 36(5): 501 - 504.
- [10] Aleksi A, Aleksi Z, Stojanovi M. TSH receptor antibodies for confirming the diagnosis and prediction of remission duration, in newly diagnosed Graves' disease patients [J]. Hell J Nucl Med, 2009, 12(2): 146 - 150.
- [11] Smith J, Brown RS. Persistence of thyrotropin (TSH) receptor antibodies in children and adolescents with Graves' disease treated using antithyroid medication[J]. Thyroid, 2007, 17(11): 1103 - 1107.
- [12] Shinohara M, Chung YJ, Saji M, et al. Akt in thyroid tumorigenesis and progression[J]. Endocrinology, 2007, 148(3): 942 - 947.
- [13] Persad S, Attwell S, Gray V, et al. Regulation of protein kinase B/Akt-serine 473 phosphorylation by integrin-linked kinase: critical roles for kinase activity and amino acids arginine 211 and serine 343[J]. J Biol Chem, 2001, 276(29): 27462 - 27469.
- [14] Fingar DC, Blenis J. Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression [J]. Oncogene, 2004, 23(18): 3151 - 3171.
- [15] Zhang HH, Lipovsky AI, Dibble CC, et al. S6K1 regulates GSK3 under conditions of mTOR-dependent feedback inhibition of Akt[J]. Mol Cell, 2006, 24: 185 - 197.
- [16] Testa JR, Bellacosa A. Akt plays a central role in tumorigenesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98(20): 10983 - 10985.
- [17] Chen CR, Pichurin P, Nagayama Y, et al. The thyrotropin receptor autoantigen in Graves' disease is the culprit as well as the victim [J]. Clin Invest, 2003, 111(12): 1897 - 1904.

(收稿: 2014 - 04 - 30 修回: 2015 - 07 - 07)

中国中西医结合杂志社微信公共账号已开通

近日, 中国中西医结合杂志社已经开通微信公共账号, 可通过扫描右方二维码或者搜索微信订阅号“中国中西医结合杂志社”加关注。本杂志社将通过微信不定期发送《中国中西医结合杂志》、*Chinese Journal of Integrative Medicine* 的热点文章信息, 同时可查看两本期刊的全文信息, 欢迎广大读者订阅。

