

## 桥本甲状腺炎对孕鼠额叶谷氨酸及其转运体的影响

柳田田 杨 昊 夏 琴 程 锦 吴章碧 王 囡 朱德发

**摘要** 目的 研究桥本甲状腺炎(HT)对孕鼠额叶谷氨酸(Glu)浓度的影响及Glu转运体的变化。方法 适应性饲养50只NOD雌性小鼠1周后,随机分为正常对照组(CON组)20只、桥本甲状腺炎组(HT组)30只,将猪甲状腺球蛋白(pTg)于HT组小鼠尾根部皮下注射制备HT小鼠模型。造模成功后,各组雌鼠与健康NOD雄鼠合笼使其受孕。通过ELISA测定血清促甲状腺激素(TSH)水平;电化学发光免疫分析法测定血清甲状腺过氧化物酶抗体(TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(TgAb)水平和血清甲状腺激素三碘甲状腺原氨酸(T<sub>3</sub>)、甲状腺素(T<sub>4</sub>)水平;ELISA法检测孕鼠额叶Glu浓度;Western blot法检测额叶中囊泡谷氨酸转运体(VGLUT1)和兴奋性谷氨酸转运体(EAAT2)的蛋白表达水平。RT-qPCR观察孕鼠额叶VGLUT1、EAAT2 mRNA的表达水平。结果 ① HT组孕鼠血清甲状腺抗体水平(TPOAb、TgAb)较CON组升高( $P < 0.05$ ) ② 2组血清T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TSH差异无统计学意义;③ ELISA法显示:与CON组比较,HT组额叶中Glu含量升高( $P < 0.05$ );④ Western blot法:HT组VGLUT1蛋白表达较CON组降低( $P < 0.05$ ) ⑤ 2组EAAT2的蛋白表达水平差异无统计学意义;⑥ RT-qPCR法显示:HT组额叶VGLUT1 mRNA表达相比CON组降低( $P < 0.05$ ) ⑦ 2组EAAT2 mRNA表达水平差异无统计学意义。结论 HT可导致孕鼠额叶Glu含量增高,Glu转运体VGLUT1蛋白表达下降,提示HT可导致Glu代谢紊乱。

**关键词** 桥本甲状腺炎;额叶;谷氨酸;谷氨酸转运体;怀孕

中图分类号 R 581.4; R 322.81; R 341.7; R 714.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)05-0693-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.05.008

桥本甲状腺炎(hashimoto's thyroiditis, HT)是常见的自身免疫性甲状腺疾病,发病率0.3%~10%,女性高发。其特征为甲状腺内淋巴细胞浸润,部分甲状腺滤泡破坏以及血清自身抗体甲状腺球蛋白

抗体(thyroglobulin antibody, TgAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)的增加<sup>[1]</sup>。相关研究<sup>[2]</sup>表明,妊娠期女性血清抗TPOAb水平与情绪障碍有着明显关系。有文献<sup>[3]</sup>指出情绪障碍与谷氨酸能系统功能障碍有关。谷氨酸(glutamic acid, Glu)具有广泛的神经调节作用,是中枢神经系统中主要的兴奋性神经递质<sup>[4]</sup>。高浓度的Glu产生的神经毒性可导致神经元死亡,Glu在神经元细胞外维持低浓度主要依赖于Glu转运体的调节<sup>[5]</sup>。课题组前期研究<sup>[6]</sup>显示,HT可导致小鼠额叶Glu含量增加,额叶是影响情绪行为的关键大脑区域。现试图探讨小鼠在妊娠状态下,HT对额叶Glu水平的影响。

### 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 6周龄健康NOD雌性小鼠50只、NOD雄鼠10只,购自北京华阜康生物科技有限公司,体质量20~23g,标准饲养条件饲养于安徽医科大学动物实验中心,温度21~23℃,湿度(55±5)%。实验过程遵循《安徽医科大学实验动物管理和使用指南》。

**1.2 主要试剂及仪器** 猪甲状腺球蛋白(porcine-thyroglobulin, pTg)、完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)、不完全弗氏佐剂(incomplete Freund's adjuvant, IFA)(美国Sigma公司);三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T<sub>3</sub>)试剂盒、四碘甲状腺原氨酸(tetraiodothyronine, T<sub>4</sub>)试剂盒、甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulin antibody, TgAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)(德国Roche公司);促甲状腺激素(thyroid stimulating-hormone, TSH) ELISA试剂盒(武汉云克隆、CEA463Mu);Glu ELISA试剂盒(武汉华美公司);兔单克隆抗体囊泡谷氨酸转运蛋白(vesicular glutamate transporter, VGLUT1)、兴奋性谷氨酸转运蛋白(excitatory glutamate transporter, EAAT2)及内参一抗GAPDH(美国Abcam公司);辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG抗体(美国Millipore公司);超敏显

2020-01-15 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81272152)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院老年内分泌科,合肥 230022

作者简介:柳田田,女,硕士研究生;

朱德发,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: zdfa0168@sina.com

影液(美国 Thermo 公司);化学发光成像仪(上海 Tanon 公司);高速台式冷冻离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司);低速迷你离心机(海门市其林贝尔仪器制备有限公司);普通 PCR 仪(杭州晶格科学仪器公司);微量移液器(德国 Eppendorf 公司);微板孔迷你离心机(杭州奥盛仪器有限公司);逆转录试剂盒、荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Scientific 公司);形态学图像分析系统(Image-ProPlus 6.0,美国 Media Cybernetics 公司)。

**1.3 制备动物模型** 适应性喂养 50 只 NOD 雌性小鼠 1 周后,随机分成 2 组,即 CON 组(20 只)和 HT 组(30 只)。在 100  $\mu$ l 生理盐水中溶入 25  $\mu$ g pTg,分别在一次性注射器中吸入等量 CFA 与 pTg 溶液,接通三通管,冰浴条件下研磨至完全乳化。随后固定小鼠,在 HT 组小鼠尾根部 1 cm 处用一次性注射器皮下注射乳状剂 0.1 ml。在 CON 组注射等量不含 pTg 的 CFA 乳化剂。14 d 后将 CFA 替换成 IFA,与 pTg 制备成乳化剂,同样操作在每只 HT 组小鼠尾根部 1 cm 处皮下注射 0.1 ml 乳化剂。在 CON 组注射等量不含 pTg 的 IFA 乳化剂。造模周期 49 d。造模成功后,将各组雌鼠与健康 NOD 雄鼠 2:1 合笼建立妊娠模型。实验经安徽医科大学伦理委员会审核批准。

#### 1.4 方法

**1.4.1 妊娠小鼠模型制备** 将造模成功的雌鼠与健康雄鼠随机分组合笼,雌雄比 2:1,每日 19:30–20:00 合笼,次日 7:00–7:30 观察雌鼠阴道口是否有阴栓,若有阴栓判断为已交配,取出另笼饲养,记为受孕 0.5 d。

**1.4.2 血清甲状腺激素水平测定** 取 2 组孕鼠各 15 只经水合氯醛麻醉后眼眶静脉取血 1 ml 4  $^{\circ}$ C 冰箱静置 4~6 h 4 000 r/min 离心 15 min,分离血清并于 4  $^{\circ}$ C 冰箱保存。ELISA 法检验血清 TSH 水平,电化学发光免疫分析法检验血清 T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub>、TPOAb、TgAb 水平。

**1.4.3 标本制备** 妊娠 4.5 d 小鼠取血后立即断头处死,冰上迅速分离脑组织,取额叶置于 -80  $^{\circ}$ C 冰箱保存。2 组各分离 6 只小鼠甲状腺 4% 多聚甲醛中固定分离的甲状腺,置于摇床上 24 h 后,石蜡包埋,连续切成 5  $\mu$ m 厚薄片。

**1.4.4 HE 染色** 将甲状腺切片脱蜡、复水,苏木精染色后水洗,盐酸乙醇分色、蓝化,伊红染色后水

洗,再经脱水、透明后烘干封片。光学显微镜下拍摄图片。

**1.4.5 ELISA 法检测谷氨酸水平** 2 组各取 6 只左脑额叶组织加入 300  $\mu$ l PBS (pH 7.4) 冰上匀浆,4  $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 20 min,收集上清液。按 Glu 的 ELISA 试剂盒说明操作:配置标准品与洗涤液;将 50  $\mu$ l 标准品加入酶标包被板的标准孔中;样品孔加入样品稀释液 40  $\mu$ l 后加入样品 10  $\mu$ l(最终稀释度为 5 倍);每孔加入酶标试剂 100  $\mu$ l;空白孔不加入酶标试剂及样品;封板膜封板后 37  $^{\circ}$ C 温育 1 h;弃去液体,洗涤液重复洗涤各孔 5 次;每孔相继加入显色剂 A、显色剂 B 各 50  $\mu$ l,轻轻震荡混匀后 37  $^{\circ}$ C 避光显色 15 min;各孔加终止液 50  $\mu$ l 终止反应;以空白孔调零,酶标仪 450 nm 波长测量各孔的吸光度(optical density, OD) 值;对照标准曲线换算出样品的 Glu 浓度。

**1.4.6 Western blot 法检测 VGLUT1、EAAT2 蛋白表达水平** 2 组孕鼠各取 3 只右脑额叶,按 100:1 混匀组织裂解液和蛋白酶抑制剂后,加右脑额叶并冰上匀浆 4  $^{\circ}$ C、15 000 r/min 离心 15 min,取上清液再次 4  $^{\circ}$ C、15 000 r/min 离心 15 min,取上清液按 BCA 试剂盒方法测定蛋白浓度;使用 2 $\times$  上样缓冲液稀释定量,100  $^{\circ}$ C、10 min 蛋白变性,分装 -20  $^{\circ}$ C 保存;制胶,每组取蛋白样本 20  $\mu$ g 进行 SDS-PAGE 电泳分离后转至 PVDF 膜上;丽春红染色,三蒸水洗涤 3 次 7 min;5% 脱脂牛奶封闭 2 h,三蒸水洗涤 3 次 7 min;加入不同一抗(VGLUT1 1:1 000,EAAT2 1:1 000,GAPDH 1:4 000) 4  $^{\circ}$ C 条件下摇床孵育过夜。PBST 洗膜 3 次,每次 10 min,PBS 洗膜 10 min;加入 HRP 相应二抗(VGLUT1/EAAT2 1:80 000 2 h;GAPDH 1:150 000) 室温孵育 40 min;PBST 洗膜 3 次,每次 10 min,PBS 洗膜 10 min;滴加超敏显影液后置于化学发光成像仪中拍摄蛋白条带;Image proplus 图像分析软件进行灰度值分析,计算目的蛋白与内参对照 GAPDH 的灰度值比值。

**1.4.7 RT-qPCR 法检测 VGLUT1、EAAT2 mRNA 水平** 2 组各取 8 只额叶组织 60 mg,剪碎研磨,加入 1 ml TRIzol 匀浆,加 0.2 ml 氯仿,振荡 15 s,室温孵育 5 min 后离心,加 0.5 ml 预冷异丙醇,混匀,冰上孵育 30 min 后离心弃上清液,加 1 ml 预冷 75% 乙醇后离心弃上清液,室温干燥 RNA 沉淀,加 50  $\mu$ l DEPC 水,-80  $^{\circ}$ C 保存;在 0.2 ml EP 管中,加入总

RNA ( 质量为 1 μg )、10 μmol/L Oligo( dT) 1 μl、DEPC 水补足至 11 μl 后混匀,进行离心、加热、冰浴;上述 EP 管中加入 5 × Reaction Buffer 4.0 μl、10 mmol/L dNTP Mix 2 μl、Ribolock™ Rnase inhibitor 1 μl、RevertAid™ M - MuLV Reverse Transcriptase 1 μl; 42 °C、60 min, 70 °C、5 min; 取出上述反应液,即为 cDNA, -80 °C 保存备用。取出 cDNA 作为荧光定量的模板,反应体系: 2 × SYBR Green mixture 5 μl; Forward primer( 10 μmol/L) 1 μl; Reverse primer ( 10 μmol/L) 1 μl; cDNA 1 μl; 不含 RNase 的纯水 2 μl; 反应条件: 95 °C 变性 2 min; 95 °C 退火 5 s; 60 °C 延伸 10 s 3 个步骤进行 40 个循环; 进行目的基因扩增。荧光定量结果用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 进行分析。各基因引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 引物序列

基因	序列长度( bp)	上游引物( 5'-3')	下游引物( 5'-3')
β-actin	120	ACTGTGACGTTGACATCCGT	TGCTAGGAGCCAGACAGTA
EAAT2	119	CAATGTGGTGGGGGATTCTT	ACTGCGTCTTGGTCAATTCG
VGLUT1	148	GTCCTACATCATCGCCATC	TTGAACCTGGGCTTCTGCAC

1.5 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用成组 *t* 检验; *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 孕鼠血清甲状腺激素及抗体水平 两组 T3、T4、TSH 水平差异无统计学意义,HT 组 TgAb、TPOAb 水平较 CON 组升高( *P* < 0.05 )。见表 2。

表 2 各组孕鼠 T3、T4、TSH、TgAb、TPOAb 水平( *n* = 15  $\bar{x} \pm s$  )

项目	CON 组	HT 组	<i>t</i> 值
FT3( nmol /L)	6.058 ± 0.833	6.270 ± 0.923	-0.764
FT4( nmol /L)	32.463 ± 5.618	32.433 ± 4.084	0.020
TSH ( pg /ml)	268.444 ± 34.053	272.053 ± 38.250	-0.315
TgAb ( IU /ml)	12.745 ± 1.464	155.392 ± 35.784*	-17.813
TPOAb ( IU /ml)	22.917 ± 6.811	44.132 ± 14.333*	-5.978

与 CON 组比较: \* *P* < 0.05

2.2 两组孕鼠甲状腺 HE 染色情况对比 与 CON 组相比,HT 组孕鼠甲状腺内可见部分甲状腺滤泡破坏及大量淋巴细胞浸润。见图 1。

2.3 两组孕鼠额叶谷氨酸含量比较 ELISA 法检测结果显示,CON 组孕鼠额叶 Glu 浓度水平低于 HT 组,差异有统计学意义( *P* < 0.05 )。见图 3。

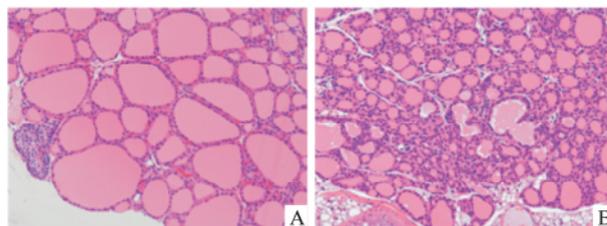


图 1 孕鼠甲状腺组织 HE 染色 ×200  
A: CON 组; B: HT 组

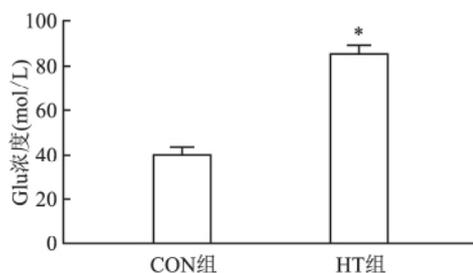


图 2 两组孕鼠额叶 Glu 水平的表达  
与 CON 组比较: \* *P* < 0.05

2.4 两组孕鼠额叶 VGLUT1、EAAT2 蛋白表达水平情况 HT 组孕鼠额叶组织中谷氨酸转运体 VGLUT 1 蛋白表达较 CON 组孕鼠降低( *P* < 0.05 ), 差异有统计学意义; 与 CON 组相比,HT 组额叶组织中谷氨酸转运体 EAAT 2 的蛋白表达差异无统计学意义。见图 3。

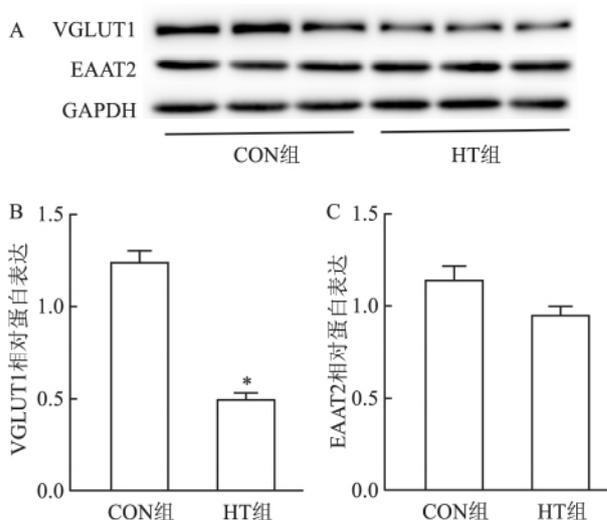


图 3 HT 对孕鼠额叶 VGLUT 1、EAAT 2 蛋白水平表达的影响

A: VGLUT 1 和 EAAT 2 在孕鼠额叶中的蛋白表达的情况; B: 两组 VGLUT 1 蛋白表达; C: 两组 EAAT 2 蛋白表达; 与 CON 组比较: \* *P* < 0.05

2.5 两组孕鼠额叶 VGLUT1、EAAT2 mRNA 表达

情况 与 CON 组相比 ,HT 组额叶组织中 VGLUT 1 mRNA 表达降低(  $P < 0.05$  ) ,差异有统计学意义;而两组额叶中 EAAT 2 mRNA 表达差异无统计学意义。见表 3。

表 3 两组孕鼠 VGLUT 1、EAAT 2 mRNA 表达水平(  $n = 8, \bar{x} \pm s$  )

项目	CON 组	HT 组	t 值
VGLUT1	1.041 ± 0.291	0.534 ± 0.212*	4.224
EAAT2	1.008 ± 0.145	0.873 ± 0.215	1.552

与 CON 组比较: \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

本研究通过将 pTg 结合弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂注射于 NOD 小鼠尾根部建立 HT 动物实验模型<sup>[7]</sup> ,结果显示 HT 组小鼠仅表现 TgAb 和 TPOAb 升高 ,甲状腺 HE 染色结果见大量淋巴细胞浸润及部分甲状腺滤泡破坏 ,提示 HT 造模成功。HT 造模成功后 ,将健康 NOD 雄鼠与 2 组小鼠合笼 ,选取妊娠小鼠。

课题组前期对 HT 小鼠进行研究<sup>[6]</sup> ,显示 HT 小鼠额叶 Glu 较 CON 组升高;本实验通过对孕鼠的研究 ,显示 HT 组孕鼠额叶 Glu 含量高于 CON 组;有文献报道<sup>[8-9]</sup> 对多发性硬化症患者的研究 ,发现血清 Glu 含量及脑脊液 Glu 水平升高 ,多发生情绪障碍。Kashanian et al<sup>[2]</sup> 的研究显示在甲状腺功能正常的孕妇中 ,妊娠早期血清抗 TPOAb 阳性比血清抗 TPOAb 阴性的孕妇焦虑与抑郁增加更明显。这提示了 HT 可能是导致孕妇情绪改变的一个关键因素 ,推测其机制可能与脑内 Glu 水平相关。有报道<sup>[10]</sup> 进一步表明 HT 可能导致大脑失衡 ,其机制可能是抗 TPOAb 水平与 T 淋巴细胞的细胞因子相关。T 淋巴细胞产生的细胞因子包括肿瘤坏死因子  $\alpha$  和干扰素  $\gamma$  显著增加 ,这些炎性因子可能通过改变其自身的合成 ,释放和再摄取影响神经递质 Glu 的水平。

Glu 转运体能摄取转运 Glu ,保护神经元免受谷氨酸能过度信号传递产生的兴奋性毒性 ,其表达降低 ,可造成 Glu 堆积在突触间隙<sup>[5]</sup> 。Glu 转运体分为 VGLUTs 与 EAATs。研究<sup>[11]</sup> 显示 ,突触间隙中的 Glu 浓度由介导 Glu 胞吐释放的 VGLUTs 和增加 Glu 再摄取的 EAATs 调节。VGLUTs 能特异性地将神经元胞质内的 Glu 转运至突触囊泡内 ,其主要分布于囊泡膜上 ,有 3 种亚型( VGLUT 1-3) ,VGLUT 1

最重要<sup>[5,12]</sup> 。EAATs 有 5 种亚型( EAAT 1 - 5) ,其中 EAAT 2 主要表达于神经元及神经胶质细胞膜上 ,以高亲和力运输 Glu ,负责将 Glu 从突触间隙中清除 ,维持低水平的细胞外 Glu<sup>[5,13]</sup> 。本研究中 Western blot 法表示 ,HT 组额叶中 VGLUT 1 蛋白表达水平较 CON 组降低。RT-qPCR 结果显示 ,与 CON 组相比 ,HT 组 VGLUT 1 的 mRNA 表达降低。2 种方法中 EAAT 2 的蛋白表达水平与 mRNA 表达虽有下调趋势 ,但差异无统计学意义。有研究<sup>[12,14]</sup> 发现 ,模拟严重抑郁症行为模型中 ,小鼠前脑 VGLUT 1 水平的降低 ,能引起 Glu 水平的增加。自身免疫性脑脊髓炎大鼠脊髓 Glu 摄取上调伴随着 EAAT 2 蛋白水平降低。本研究实验结果显示 HT 妊娠小鼠额叶内 VGLUT 1 表达水平降低 ,可能不能有效的将神经细胞产生和在摄取的 Glu 储存于突触囊泡内 ,导致神经细胞外 Glu 的堆积。

综上所述 ,HT 可导致孕鼠额叶 Glu 含量升高 ,Glu 转运体 VGLUT 1 蛋白表达下降。该结果提示 HT 可导致 Glu 代谢紊乱 ,为妊娠 HT 患者的情绪障碍提供一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] Caturegli P , De Remigis A , Rose N R , et al. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria[J]. *Autoimmun Rev* ,2014 ,13 ( 4 - 5) : 391 - 7.
- [2] Kashanian M , Bozorgzadeh Vosta Kolaei S , Naderi Z , et al. Evaluation of the relationship between serum anti TPO antibody levels and mood disorders in euthyroid pregnant women[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med* ,2019: 1 - 5.
- [3] Lener M S , Kadriu B , Zarate C A Jr. Ketamine and beyond: investigations into the potential of glutamatergic agents to treat depression[J]. *Drugs* ,2017 ,77( 4) : 381 - 401.
- [4] Levite M. Glutamate , T cells and multiple sclerosis[J]. *J Neural Transm ( Vienna)* ,2017 ,124( 7) : 775 - 98.
- [5] 王丹丹 ,刘光辉 ,赵钰玮 ,等. 高氧对新生大鼠脑内谷氨酸及其转运体的影响[J]. *安徽医科大学学报* ,2018 ,53( 9) : 1388 - 91.
- [6] 朱 敏 ,蔡瑶俊 ,陈章祥 ,等. 桥本甲状腺炎合并甲状腺毒症对小鼠额叶谷氨酸含量的影响[J]. *安徽医科大学学报* ,2018 ,53( 3) : 378 - 81.
- [7] Damotte D , Colomb E , Cailleau C , et al. Analysis of susceptibility of NOD mice to spontaneous and experimentally induced thyroiditis[J]. *Eur J Immunol* ,1997 ,27( 11) : 2854 - 62.
- [8] Al Gawwam G , Sharquie I K. Serum glutamate is a predictor for the diagnosis of multiple sclerosis[J]. *Scientific World J* ,2017 ,2017: 9320802.

- [9] Acharjee S , Verbeek M , Gomez C D , et al. Reduced microglial activity and enhanced glutamate transmission in the basolateral amygdala in early CNS autoimmunity [J]. *J Neurosci* , 2018 , 38 ( 42 ) : 9019 – 33.
- [10] Leyhe T , Müssig K. Cognitive and affective dysfunctions in autoimmune thyroiditis [J]. *Brain Behav Immun* , 2014 , 41 : 261 – 6.
- [11] Yu W , Shi X , Cui X , et al. Jian-Pi-Zhi-Dong-Decoction regulates the expression of glutamate transporters to attenuate glutamate excitotoxicity and exerts anti-tics effects in Tourette syndrome model rats [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat* , 2018 , 14 : 3381 – 92.
- [12] Takeda K , Ueda T. Effective mechanism for synthesis of neurotransmitter glutamate and its loading into synaptic vesicles [J]. *Neurochem Res* , 2017 , 42 ( 1 ) : 64 – 76.
- [13] Peterson A R , Binder D K. Post-translational regulation of GLT-1 in neurological diseases and its potential as an effective therapeutic target [J]. *Front Mol Neurosci* , 2019 , 12 : 164.
- [14] Garcia-Garcia A L , Elizalde N , Matrov D , et al. Increased vulnerability to depressive-like behavior of mice with decreased expression of VGLUT1 [J]. *Biol Psychiatry* , 2009 , 66 ( 3 ) : 275 – 82.

## Effect of Hashimoto's thyroiditis on glutamate and its transporter in frontal lobe of pregnant rats

Liu Tiantian , Yang Hao , Xia Qin , et al

( Dept of Elderly Endocrinology , The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230022 )

**Abstract Objective** To investigate the effects of Hashimoto's thyroiditis ( HT ) on the concentration of glutamate ( Glu ) in the frontal lobe of pregnant rats and the changes of glutamate transporters. **Methods** After adaptively feeding for a week , 50 NOD female micewere randomly divided into normal control group ( CON group , 20 mice ) and Hashimoto thyroiditis group ( HT group , 30 mice ) . HT mouse model was prepared by subcutaneous injection of porcine thyroglobulin in the tail root of HT group. After successful modeling , female mice in each group were caged with healthy NOD males to get pregnant. Serum thyroid stimulating hormone ( TSH ) levels were determined by ELISA. The levels of serum thyroid peroxidase antibody ( TPOAb ) , thyroglobulin antibody ( TgAb ) and serum thyroid hormone triiodothyronine ( T3 ) and thyroxine ( T4 ) were determined by electrochemiluminescence immunoassay. The concentration of Glu in the frontal lobe of pregnant rats was detected by ELISA. Western blot assay was used to detect protein expression levels of vesicular glutamate transporter VGLUT 1 and excitatory glutamate transporter EAAT 2 in frontal lobe. RT-qPCR was used to observe the expression of VGLUT1 and EAAT2 mRNA in the frontal lobe of pregnant rats. **Results** ① Serum thyroid antibody levels ( TPOAb , TgAb ) in HT group were higher than those in CON group (  $P < 0.05$  ) . There was no significant difference in serum T3 , T4 and TSH between the two groups; ② The ELISA showed that the glutamate content in the frontal lobe of the HT group was higher than that in the CON group (  $P < 0.05$  ) ; ③ Western blot method showed that the expression of VGLUT 1 protein in HT group was lower than that in CON group (  $P < 0.05$  ) , and the protein expression level of EAAT 2 in the two groups was not statistically significant; ④ RT-qPCR showed that the mRNA expression of VGLUT 1 in the frontal lobe of HT group was lower than that in CON group (  $P < 0.05$  ) . There was no significant difference in the expression level of EAAT 2 mRNA between the two groups. **Conclusion** HT can increase the content of Glu in the frontal lobe of pregnant mice , and decrease the expression of the glutamate transporter VGLUT 1 protein , suggesting that HT can cause glutamate metabolism disorders.

**Key words** Hashimoto's thyroiditis; frontal lobe; glutamic acid; glutamate transporter; pregnancy