

网络出版时间: 2019-5-30 10:51 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190527.1648.017.html>

◇ 临床医学研究 ◇

应用 UGRP1 预测 Graves 病患者碘 131 治疗发生甲减风险

朱莉¹, 宫伟宁², 牡丹丹², 李俊², 左春林¹

摘要 目的 探讨格雷夫斯病(GD)患者甲状腺细胞子宫球蛋白相关蛋白 1(UGRP1)的表达与碘 131(¹³¹I)治疗后甲状腺功能减退症(甲减)发生风险之间的关系。方法 38 例拟行¹³¹I 治疗的 GD 患者,通过免疫组化方法检测甲状腺穿刺细胞学所取甲状腺细胞 UGRP1 的表达,分为 UGRP1 阳性组(20 例)和 UGRP1 阴性组(18 例),¹³¹I 治疗后 12 周随访甲状腺功能,分别计算两组的甲减发生率。结果 UGRP1 阳性组采用¹³¹I 治疗,甲减发生率 75%;UGRP1 阴性组采用¹³¹I 治疗,甲减发生率 33%,两组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 UGRP1 阳性表达组采用¹³¹I 治疗甲减发生风险较阴性表达组高,提示可以根据 UGRP1 的表达情况预测 GD 患者¹³¹I 治疗发生甲减风险。

关键词 Graves 病;甲状腺功能减退症;免疫组化;子宫球蛋白相关蛋白 1

中图分类号 R 581.11

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)06-0946-04

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.06.023

格雷夫斯病(Graves' disease, Graves 病, GD)是一种常见的自身免疫性甲状腺疾病,临床上针对 GD 有三种治疗方法,即抗甲状腺药物、碘 131(¹³¹I)及手术治疗^[1]。相比另两种疗法,¹³¹I 治疗有方便、经济、治愈率高的特点,但永久性甲状腺功能减退症(甲减)是其难以回避的副作用。针对引起甲减的相关因素,目前研究结果多不一致。Yang et al^[2]提出其与甲状腺 24 h 碘摄取量、治疗时碘总剂量、游离甲状腺素水平、甲状腺质量以及抗甲状腺药物的使用相关。Šfiligoj et al^[3]研究表明年龄是其独立影响因素。子宫球蛋白相关蛋白 1(uteroglobulin-related protein 1, UGRP1)是一种功能尚未完全明确的分泌蛋白,在正常甲状腺组织有少量表达^[4]。UGRP1 基

因位于 GD 的易感区段内,且是甲状腺转录因子的下游靶基因,可能参与 GD 的发病过程^[5]。该研究通过针吸 GD 患者甲状腺细胞分析 UGRP1 的表达情况,观察其与¹³¹I 治疗后发生早期甲减风险的相关性,旨在探究 GD 患者¹³¹I 治疗后甲减发生风险的预测指标。

1 材料与方法

1.1 病例资料 招募 2017 年 3 月~2018 年 3 月安徽医科大学第一附属医院内分泌科首次接受¹³¹I 治疗女性 GD 住院患者共 38 例,所有患者符合放射碘治疗指征^[6]。每例患者在接受¹³¹I 治疗前均行甲状腺细针穿刺细胞学检查,留取切片两张,分别行苏木精-伊红染色及 UGRP1 免疫组化染色。本研究通过安徽医科大学第一附属医院伦理委员会批准,所有入组患者知悉检测内容并签署知情同意书。

1.2 主要试剂 一抗:兔抗人 UGRP1 多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;二抗:PV6000 山羊抗兔 IgG/HRP 聚合物、DAB 试剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验步骤(Envision 二步法) -20℃冰箱保存标本,37℃烤箱孵育 30 min,使用 3% 过氧化氢封闭内源性过氧化物酶活性及 0.3% TRiton-X100 溶解细胞膜和核膜的脂质;滴加兔来源的 UGRP1 抗体(1:500)覆盖切片,4℃孵育过夜;滴加即用型二抗,37℃烤箱孵育 30 min,滴加适量新鲜配置的 DAB 显色液,显微镜下观察控制显色时间;苏木精染液染色 20 s,纯水冲洗 10 min 充分蓝化,自然风干后,中性树脂封片。

1.4 实验结果判定标准 在光镜下分析,排除非特异性染色前提下,细胞膜上或细胞质内有黄色、棕黄色或棕褐色颗粒的细胞为阳性细胞。本研究样本均由两名具备病理检验资质的医师进行阅片。

1.5 统计学处理 用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。计量资料中符合正态分布的数值采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验,符合非正态分布的数值采用中位数表示,组间比较采用 Mann-

2019-02-18 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81270864)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院¹ 内分泌科、² 肿瘤科细胞室,合肥 230022

作者简介:朱莉,女,硕士研究生;

左春林,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: zuochl@sina.com

Whitney U 非参数检验; 计数资料组间比较及单因素分析采用 χ^2 检验及 Fisher 确切检验, 单因素回归分析中 $P < 0.1$ 的因素将纳入多因素回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GD 患者 ^{131}I 治疗前的资料 根据 UGRP1 的表达的情况, 将 38 例患者分为 UGRP1 阳性表达组和 UGRP1 阴性表达组, ^{131}I 治疗前两组 GD 患者的年龄、病程、血常规、肝功能、血清中三碘甲状腺氨酸 (triiodothyronine, TT3)、甲状腺素 (thyroxine, TT4)、促甲状腺激素 (thyroid stimulating hormone, TSH)、甲状腺过氧化物酶抗体 (thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、抗甲状腺球蛋白抗体 (anti-thyroglobulin antibody, ATG)、甲状腺球蛋白 (thyroglobulin, Tg) 和促甲状腺激素受体抗体 (thyroid stimulating hormone receptor antibody, TRAb) 等组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组治疗前临床资料的比较 ($n = 38$)

项目	UGRP1 阳性组 ($n = 20$)	UGRP1 阴性组 ($n = 18$)	t/Z 值	P 值
年龄 (岁)	34.25 ± 2.04	37.56 ± 1.98	-1.156	0.255
身高 (cm)	160.60 ± 1.41	158.30 ± 0.97	1.289	0.206
体质量 (kg)	54.15 ± 1.80	50.83 ± 1.58	1.371	0.179
病程 (月)	29.89 ± 11.45	30.83 ± 8.36	-0.067	0.948
甲巯咪唑治疗时间 (月)	14.93 ± 4.69	23.19 ± 7.50	-0.955	0.346
甲巯咪唑治疗剂量 (mg)	12.67 ± 2.84	19.64 ± 5.48	-1.152	0.259
白细胞 ($\times 10^9/\text{L}$)	5.07 ± 0.41	4.63 ± 0.40	0.756	0.455
中性粒细胞 ($\times 10^9/\text{L}$)	2.61 ± 0.28	2.28 ± 0.22	0.917	0.365
谷丙转氨酶 (U/L)	37.50 ± 6.28	24.11 ± 2.64	1.889	0.067
谷草转氨酶 (U/L)	30.11 ± 4.52	21.39 ± 1.91	1.741	0.091
TT3 (nmol/L)	4.72	5.58	1.155	0.248
TT4 (nmol/L)	240.95	254.72	1.579	0.114
TSH (uIU/ml)	0.01	0.01	0.719	0.472
TPOAb (U/ml)	794.95	1 300.00	0.712	0.477
ATG (U/ml)	170.10	313.70	1.745	0.081
Tg (ng/ml)	7.96	7.72	0.412	0.681
TRAb (U/L)	14.35	13.20	0.122	0.903

2.2 UGRP1 在 GD 甲状腺细胞中的表达 GD 患者的甲状腺细针穿刺细胞学可见甲状腺滤泡细胞片样排列, 周围可见吸收空泡, 部分核大, 细胞质较宽。背景可见胶质, 淋巴细胞少量。UGRP1 抗原呈棕黄色或棕褐色, 定位于甲状腺滤泡细胞的细胞质中。通过免疫组化的检测, 其中有 20 例患者甲状腺细胞中 UGRP1 阳性表达, 阳性率为 52.6%, 见图 1A、1B、1C; 而 18 例患者甲状腺细胞中 UGRP1 阴性表

达, 阴性率为 47.4%, 见图 1D、1E、1F。

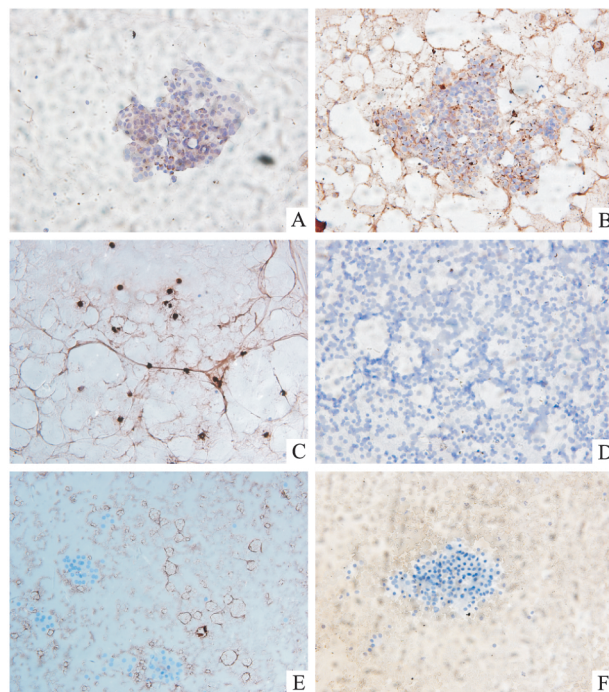


图 1 UGRP1 在 GD 甲状腺细胞中的表达 IHC $\times 200$

A、B、C: UGRP1 阳性表达组; D、E、F: UGRP1 阴性表达组

2.3 UGRP1 阳性与阴性表达组的甲状腺功能差异

不干预防治疗过程, 所有患者在行 ^{131}I 治疗后 12 周随访甲状腺功能, 其中 UGRP1 阳性表达组的 TT3 与 TT4 水平均低于 UGRP1 阴性表达组, 而 TSH 水平明显高于 UGRP1 阴性表达组, 两组间 TT3 与 TSH 水平差异有统计学意义。见表 2。

表 2 ^{131}I 治疗后 12 周两组间甲状腺功能的比较 ($n = 38$)

项目	UGRP1 阳性 表达组	UGRP1 阴性 表达组	Z 值	P 值
TT3 (nmol/L)	2.24	3.55	2.421	0.015
TT4 (nmol/L)	13.37	65.17	1.360	0.174
TSH ($\mu\text{IU}/\text{ml}$)	7.21	0.02	2.322	0.020

2.4 GD 患者 ^{131}I 治疗甲减发生预测因素分析 本研究中, 对 GD 患者 ^{131}I 治疗后出现甲减的临床及检验因素进行分析。结果显示, 在众多因素中, UGRP1 阳性表达与否同 GD 患者 ^{131}I 治疗后甲减的发生显著相关, 在 UGRP1 阳性的患者中, 发生甲减的概率显著增加 ($P < 0.01$)。见表 3。

3 讨论

^{131}I 治疗 GD 患者的主要并发症是甲状腺功能减退。目前的研究显示, 绝大多数患者 ^{131}I 治疗后

表3 ^{131}I 治疗后 12 周各组分甲减发生情况的比较 [n(%)]

项目	n	甲亢或 亚临床甲亢	甲减或 亚临床甲减	χ^2 值	P 值
年龄(岁)					
≤35	22	10(45)	12(55)	0.011	0.917
>35	16	7(44)	9(56)		
体质量指数(kg/m ²)					
标准	24	11(42)	13(58)	0.834	0.361
不标准	14	6(43)	8(57)		
病程(月)					
≤12	22	9(41)	11(59)	0.585	0.444
>12	16	6(38)	10(62)		
疗程					
未治疗	9	3(33)	6(67)	0.620	0.431
治疗	29	14(48)	15(52)		
白细胞(×10 ⁹ /L)					
≤3	11	5(45)	6(55)	0.003	0.955
>3	27	12(44)	15(56)		
中性粒细胞(×10 ⁹ /L)					
≤1.5	8	4(50)	4(50)	0.114	0.736
>1.5	30	13(43)	17(57)		
谷丙转氨酶(U/L)					
≤52	34	16(47)	18(53)	0.704	0.401
>52	4	1(25)	3(75)		
谷草转氨酶(U/L)					
≤36	33	16(48)	17(52)	1.425	0.233
>36	5	1(20)	4(80)		
TPOAb(U/ml)					
≤60	33	14(42)	19(58)	0.543	0.461
>60	5	3(60)	2(40)		
ATG(U/ml)					
≤60	29	11(38)	18(62)	2.294	0.130
>60	9	6(67)	3(33)		
Tg(ng/ml)					
≤7	8	3(38)	5(62)	0.215	0.643
>7	30	14(47)	16(53)		
TRAb(U/L)					
≤12	25	10(40)	15(60)	0.663	0.190
>12	13	7(54)	6(46)		
UGRP1					
阳性	20	5(25)	15(75)	6.653	<0.01
阴性	18	12(67)	6(33)		

发生早期甲减,通常发生在 ^{131}I 治疗后的前3~6个月内^[7],若诊断不及时或未及时给予甲状腺激素替代治疗,可能会导致甲减加重,甚至需永久性使用甲状腺激素改善机体情况,因此早期识别甲减的发生概率对指导临床治疗具有重要意义。

UGRP1 基因区域已被证实含哮喘易感位点及编码多种辅助性 T 细胞 2 型细胞因子,具有潜在的抗炎作用^[8]。2009 年 Song et al^[5] 利用 TagSNP 技术,采用定位克隆策略,率先识别出 UGRP1 基因为 GD 的易感基因之一。但到目前为止,UGRP1 如何

促进甲亢的发生尚不清楚。研究^[9]显示,UGRP1 基因敲除小鼠接受卵清蛋白诱导时,表现出加重的肺部炎症。另外,UGRP1 可能通过调节胸腺活化调节趋化因子 17 和趋化因子受体 4 途径发挥抗炎活性^[10]。早期研究^[11-13]表明,UGRP1 可能通过激活或抑制某些细胞因子的活性而发挥抗炎作用,如白介素-5(interleukin-5, IL-5)、IL-9、IL-10 等。

本研究结果显示,在 UGRP1 阳性的 GD 患者中, ^{131}I 治疗后甲减的发生率为 75%,在 UGRP1 阴性的 GD 患者中, ^{131}I 治疗后甲减的发生率为 33%,UGRP1 与 GD 患者 ^{131}I 治疗后甲减发生显著相关,且治疗前两组患者的年龄、身高、体质量、病程、抗甲状腺药物治疗时间、血常规、肝功能、甲状腺激素及抗体水平等因素均无明显差异。另外本研究仅显示 UGRP1 与 GD 患者 ^{131}I 治疗后甲减发生率相关,而患者的年龄、体质量指数、病程、抗甲状腺药物治疗时间、白细胞、中性粒细胞、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、TPOAb、ATG、Tg、TRAb 等因素均与甲减发生无关,因此无其他因素共同纳入进行下一步多因素回归分析。本研究为首次 in GD 患者临床样本中检测 UGRP1 表达,并探究 UGRP1 蛋白表达水平及其它临床因素与 ^{131}I 治疗后甲减发生的相关性,结果表明 UGRP1 对于 GD 患者行 ^{131}I 治疗后发生甲减的概率可能有预测作用。根据现有的研究结果,推测 UGRP1 可能本身是一个抗炎因子,或可能为炎症反应过程中的重要调节因子,从而参与机体炎症反应,影响 GD 的致病过程及转归。UGRP1 抑制炎症反应的具体机制,影响 GD 致病过程及转归的具体途径,是否还有其他的受体尚需进一步的研究证实。

综上所述,本研究表明 GD 患者行 ^{131}I 治疗后发生甲减可能与 UGRP1 在甲状腺细胞中的高表达有关,UGRP1 高表达是否作为 GD 患者 ^{131}I 治疗后甲减发生的有效预测因子,将有赖于多中心、大样本的临床研究。同时本研究为 GD 患者选择合适的治疗方式,在提高其治愈率同时尽可能降低甲减的发生率提供了一条新思路。

参考文献

- [1] Bahn Chair R S, Burch H B, Cooper D S, et al. Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of the American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists[J]. Thyroid, 2011, 21(6): 593 - 646.
- [2] Yang D, Xue J, Ma W, et al. Prognostic factor analysis in 325 patients with Graves' disease treated with radioiodine therapy[J]. Nucl Med Commun, 2018, 39(1): 16 - 21.

- [3] Šfiligoj D, Gabersček S, Mekjavić P J, et al. Factors influencing the success of radioiodine therapy in patients with Graves' disease [J]. *Nucl Med Commun*, 2015, 36(6): 560–5.
- [4] Niimi T, Keck-Waggoner C L, Popescu N C, et al. UGRP1, a uteroglobin/Clara cell secretory protein-related protein, is a novel lung-enriched downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1 homeodomain transcription factor [J]. *Mol Endocrinol*, 2001, 15(11): 2021–36.
- [5] Song H D, Liang J, Shi J Y, et al. Functional SNPs in the SCGB3A2 promoter are associated with susceptibility to Graves' disease [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(6): 1156–70.
- [6] 中华医学会核医学分会. ¹³¹I 治疗格雷夫斯甲亢指南(2013版) [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2013, 29(6): 448–59.
- [7] Sheehan M T, Doi S A. Transient hypothyroidism after radioiodine for Graves' disease: challenges in interpreting thyroid function tests [J]. *Clin Med Res*, 2016, 14(1): 40–5.
- [8] Niimi T, Munakata M, Keck-waggoner C L, et al. A polymorphism in the human UGRP1 gene promoter that regulates transcription is associated with an increased risk of asthma [J]. *Am J Hum Genet*, 2002, 70(3): 718–25.
- [9] Kido T, Yoneda M, Cai Y, et al. Secretoglobin superfamily protein SCGB3A2 deficiency potentiates ovalbumin-induced allergic pulmonary inflammation [J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014(1): 216465.
- [10] Yoneda M, Xu L, Kajiyama H, et al. Secretoglobin superfamily protein SCGB3A2 alleviates house dust mite-induced allergic airway inflammation in mice [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2016, 171(1): 36–44.
- [11] Chiba Y, Srisodsai A, Supavilai P, et al. Interleukin-5 reduces the expression of uteroglobin-related protein (UGRP) 1 gene in allergic airway inflammation [J]. *Immunol Lett*, 2005, 97(1): 123–9.
- [12] Chiba Y, Kusakabe T, Kimura S. Decreased expression of uteroglobin-related protein 1 in inflamed mouse airways is mediated by IL-9 [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287(6): L1193–8.
- [13] Srisodsai A, Kurotani R, Chiba Y, et al. Interleukin-10 induces uteroglobin-related protein (UGRP) 1 gene expression in lung epithelial cells through homeodomain transcription factor T/EBP/NKX2.1 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(52): 54358–68.

Application of UGRP1 to predict the risk of hypothyroidism in patients with Graves' disease treated with iodine – 131

Zhu Li¹, Guan Weining², Du Dandan², et al

(¹Dept of Endocrinology, ²Dept of Oncology Cells Chamber, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To study the relationship between the expression of UGRP1 in thyroid cells of patients with Graves' disease and the probability of hypothyroidism after iodine-131 treatment. **Methods** Immunohistochemical method was used to detect the expression of UGRP1 in thyroid cells of 38 patients with Graves' disease by fine needle aspiration biopsy (FNAB) prior to the treatment of iodine-131. The thyroid was followed up 12 weeks after iodine-131 treatment. The incidences of hypothyroidism in the UGRP1-positive group of thyroid cells and the UGRP1-negative group were calculated respectively. **Results** After treated with iodine-131, the incidence of hypothyroidism in the UGRP1-positive expression group was 75%, and the UGRP1-negative expression group was 33%. There was significant difference between the two groups ($P < 0.01$). **Conclusion** The incidence of hypothyroidism in UGRP1-positive expression group is higher than that in negative expression group, which suggests that the positive expression of UGRP1 in thyroid cells can be used to predict the risk of hypothyroidism in patients of Graves' disease treated with iodine-131.

Key words Graves' disease; hypothyroidism; immunohistochemistry; uteroglobin-related protein 1