

半乳糖凝集素-3 在桥本甲状腺炎小鼠子宫内膜的表达

李莉, 樊华, 夏琴, 柳田田, 程锦, 朱德发

摘要 目的 研究半乳糖凝集素-3(galectin-3)在桥本甲状腺炎(HT)小鼠子宫内膜动情周期的分布及表达。方法 64只清洁级NOD雌性小鼠,适应性饲养1周后随机分为正常对照组(CON组)、桥本甲状腺炎组(HT组),每组各32只,并随机选择一组于小鼠尾根部皮下注射猪甲状腺球蛋白建立桥本甲状腺炎小鼠模型。通过电化学发光免疫分析法、酶联免疫吸附法测定血清甲状腺激素及抗体水平;瑞氏染色法确定小鼠动情周期;HE染色法观察小鼠子宫内膜形态;免疫组织化学染色法、逆转录聚合酶链式反应技术(RT-PCR)观察小鼠子宫内膜galectin-3及mRNA的表达;流式微球捕获技术(CBA)测定子宫组织局部细胞因子水平。结果 ①与CON组比较,HT组小鼠血清抗体水平(TgAb、TPOAb)升高($P < 0.05$);②HE染色显示:与CON组比较,HT组动情期子宫内膜稍厚,腔上皮多呈分支绒毛状结构,固有层腺体较多且大;③免疫组化染色、RT-PCR示:与CON组比较,HT组galectin-3蛋白及mRNA在动情期子宫内膜的表达降低($P < 0.05$);④CBA法示:与CON组比较,HT组IL-2、IL-4水平均降低($P < 0.05$)。结论 galectin-3在HT小鼠子宫内膜动情各期均有表达,其中动情期升高明显,但较正常对照组降低,可能与HT小鼠子宫局部细胞因子的改变相关。

关键词 桥本甲状腺炎;半乳糖凝集素-3;子宫内膜;动情周期;细胞因子

中图分类号 R 581.1; R 341; R 322.65; R 967

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)03-0364-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.03.006

桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)又被称为慢性淋巴细胞性甲状腺炎,是一种逐年高发的自身免疫性甲状腺疾病,多见于女性。近年来研究^[1]发现HT可引起女性不孕。不孕是由多种因素综合作用的结果,有文献^[2]指出妊娠期间子宫内膜容受性降低是女性不孕的因素之一。稳定的子宫内膜容受性能够促进胚胎与内膜的相互作用,利于胚

胎着床。半乳糖凝集素-3(galectin-3)是一种通过其糖识别域识别细胞表面糖蛋白、糖脂和 β 半乳糖苷结构并与其结合的蛋白质,是半乳糖凝集素家族中的一员^[3]。有研究^[4]表明galectin-3可在子宫内膜着床窗口期能够调节子宫内膜的容受性,改善内膜细胞间粘附能力,增强胚胎对子宫内膜的植入,从而参与生殖过程。galectin-3在子宫内膜中的表达具有时空特异性,主要参与到人月经周期分泌中晚期、小鼠动情期以及胚胎种植的过程中^[5-7]。有研究^[8]发现小鼠动情期是一关键时期,在此期内能够进行排卵,与妊娠关系密切。对于galectin-3有利于妊娠并维持其过程的原因,有研究^[9]表明在于此蛋白能调节机体免疫机制的平衡。目前,关于galectin-3在桥本小鼠妊娠准备阶段子宫内膜的表达情况在国内报道较少见。该研究选取未妊娠的NOD雌鼠,旨在观察对照组和桥本组小鼠子宫内膜动情周期galectin-3的表达水平,为进一步探讨HT引起女性不孕的机制提供相关的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 取8~9周龄清洁级健康NOD雌性小鼠64只,20~23g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,于安徽医科大学毒理实验室动物标准饲养条件下饲养,保证室温20~24℃,湿度40%~60%,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)均购自美国Sigma公司;三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T3)试剂盒、四碘甲状腺原氨酸(tetraiodothyronine, T4)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)试剂盒均购自德国Roche公司;ELISA试剂盒(USCNLIFE、CEA463Mu);瑞氏染色液(南京建成科技有限公司);苏木精-伊红染色试剂盒(上海科汇生物技术有限公司);兔抗鼠galectin-3多克隆抗体

2018-11-05 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: 李莉,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

(美国 Abcam 公司); 免疫组化化学染色试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司); DAB 显色试剂盒(北京中杉金桥公司); 普通 PCR 仪(杭州晶格科学仪器有限公司); 高速台式冷冻离心机(安徽嘉文仪器设备有限公司); 荧光定量 PCR 仪、逆转录试剂盒(美国 Thermo Scientific 公司); 细胞因子试剂盒、BD FAC-SCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司); 荧光显微镜(日本 Olympus 公司); 形态学图像分析系统(Image-ProPlus 6.0, 美国 MEDIA CYBERNETICS 公司)。

1.3 动物模型制备 NOD 雌性小鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为 2 组: 正常对照组(CON 组)、桥本甲状腺炎组(HT 组), 每组各 32 只。HT 组造模步骤: 将 25 μg pTg 溶于 100 μl PBS 溶液中, 随后 CFA 与 pTg 溶液按 1:1 混于研钵中, 在冰浴条件下研磨成“油包水”状, 即完全乳化。再用注射器抽取制备好的乳状剂, 固定好小鼠, 在小鼠尾根部 1 cm 处皮下注射, 每只 0.1 ml。对照组注射等量不含 pTg 的 CFA。第 14 天将模型组的 CFA 替换成 IFA 制备成乳液, 操作方法同前, 对照组注射等量不含 pTg 的 IFA。造模周期为 49 d。实验经由安徽医科大学伦理委员会审核批准。

1.4 方法

1.4.1 动情周期确定 小鼠动情周期分为动情前期、动情期、动情后期、动情间期, 周期为 4~5 d, 每只小鼠每日动情时期各不相同, 为保证 CON、HT 两组小鼠处死时的动情各期数量相当(均为 8 只), 故采取 1 周内进行小鼠阴道脱落细胞瑞氏染色涂片, 当日做完涂片确定所处时期后立即静取血、颈椎脱臼法处死小鼠。

1.4.2 血清甲状腺激素水平测定 下腔静脉取血 1 ml, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。电化学发光免疫分析法检测血清 T₃、T₄、TgAb、TPOAb, ELISA 法检测血清促甲状腺激素(thyrotropin, TSH)。

1.4.3 标本制备 取血后小鼠立即颈椎脱臼处死, 于冰台迅速暴露小鼠腹腔“Y”形子宫, 完整取出后于子宫“Y”形中间分叉处剪断, 将左半边子宫于 4% 多聚甲醛中固定 24 h, 石蜡包埋, 矢状位连续切片, 片厚 5 μm , 用于 HE 染色、免疫组化染色; 右半边子宫浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 待做组织匀浆用于子宫局部细胞因子检测。

1.4.4 HE 染色 通过小鼠阴道脱落细胞瑞氏染色确定小鼠动情周期后再结合 HE 染色法观察动情

各期小鼠子宫内膜的形态及腺体变化。将子宫切片经脱蜡、复水后, 苏木精染料染色 20 min, 盐酸乙醇分色、蓝化后伊红染料染色 10 s, 再经脱水、透明后烘干封片。光学显微镜下拍摄图片。

1.4.5 免疫组织化学染色 小鼠子宫蜡片置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烤箱 30 min, 二甲苯脱蜡 3 次, 每次 15 min, 梯度乙醇水化; TritonX-100 细胞通透, 30% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶; 柠檬酸盐微波炉加热暴露抗原决定簇; 山羊血清封闭; 以上各步骤间使用 PBS 洗涤 3 次, 每次 3 min。galectin-3 抗体(1:50)室温孵育 1 h 后孵育过夜(4 $^{\circ}\text{C}$); HRP 标记山羊抗兔 IgG 孵育 30 min(37 $^{\circ}\text{C}$); 以上各步骤间使用 PBS 洗涤 5 次, 每次 5 min; DAB 显色, 苏木精复染 20 s, PBS 返蓝 10 min, 常规脱水、透明、封片。每张切片镜下随机选取 5 个视野在同一放大倍数下($\times 400$)进行观察, 应用光学显微镜拍摄; 运用 IPP6.0 图像分析软件分析免疫反应产物的光密度值, 取平均光密度(average optical density, AOD)值。

1.4.6 RT-PCR 反应 每 100 mg 子宫标本中加入 1 ml TRIzol 提取 RNA 后, 进行分离、沉淀、洗涤溶解后于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存; 在 0.2 ml EP 管中, 加入总 RNA(质量为 1 μg)、10 $\mu\text{mol/L}$ Oligo(dT) 1 μl 、DEPC 水补足至 12 μl , 进行离心、加热、水浴; 在上述 EP 管中加入 5 $\times$ Reaction Buffer 4.0 μl 、10 mmol/L dNTP Mix 2 μl 、RibolockTM Rnase inhibitor 1 μl 、RevertAidTM M-MLV Reverse Transcriptase 1 μl 于 42 $^{\circ}\text{C}$ 加热 60 min, 70 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min; 取出上述反应液, 即为 cDNA, -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用; 取出 cDNA 作为荧光定量模板, 使用 Thermo Scientific 公司的 RevertAid Reverse Transcriptase 建立反应体系; 进行目的基因扩增; galectin-3 上游引物: 5'-ACGCCATGATCTAAGCCAGA-3'; 下游引物: 5'-GCGATGGGTATCTCTCAGCC-3'。观察反应结果, 进行产物分析。

1.4.7 流式微球捕获技术(CBA 法)检测细胞因子 将子宫组织匀浆后作为待测样品, 准备好缓冲液等试剂, 将白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)两种细胞因子标准品冻干粉转移到离心管中, 用稀释液进行重悬、梯度稀释、混匀后将分装的捕获微球立即混匀并装入流式管中, 标记为混合微球; 各实验管中加入混合好的捕获微球 50 μl , 将标准管中加入上述梯度稀释好的标准品, 样本管中加入 50 μl 待测样品, 弃去上清液。所有管均室温避光孵育 2 h, 同时用流式仪器调校微球进行实验条件设置, 清洗捕获微球/样本/标准品

复合物,上机检测,进行数据分析。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠血清甲状腺激素及抗体水平 与 CON 组相比,HT 组 TgAb、TPOAb 水平升高 ($P < 0.05$),T3、T4、TSH 水平差异无统计学意义。见表 1。

表 1 各组小鼠 T3、T4、TSH、TgAb、TPOAb 水平 ($n=20, \bar{x} \pm s$)

项目	CON 组	HT 组	t 值
T3 (nmol/L)	1.536 $\pm$ 0.096	1.534 $\pm$ 0.087	0.015
T4 (nmol/L)	39.398 $\pm$ 2.380	39.902 $\pm$ 3.041	-1.300
TSH (μ mol/L)	325.638 $\pm$ 16.951	355.326 $\pm$ 2.300	-1.030
TgAb (IU/mol/L)	25.681 $\pm$ 1.380	166.601 $\pm$ 9.61*	-7.186
TPOAb (IU/mol/L)	23.851 $\pm$ 0.819	29.649 $\pm$ 0.500*	-6.045

与 CON 组比较: * $P < 0.05$

2.2 小鼠子宫内膜动情期 HE 染色 动情期是利于小鼠交配的最关键时期,故选取两组小鼠动情期子宫内膜初步比较。光镜下显示: HT 组较 CON 组,内膜增厚明显,腔上皮多呈分支绒毛状结构,固有层腺体多而大。见图 1。

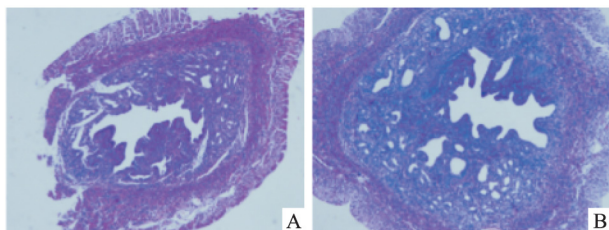


图 1 两组小鼠子宫内膜动情期 HE $\times 50$

A: CON 组动情期; B: HT 组动情期

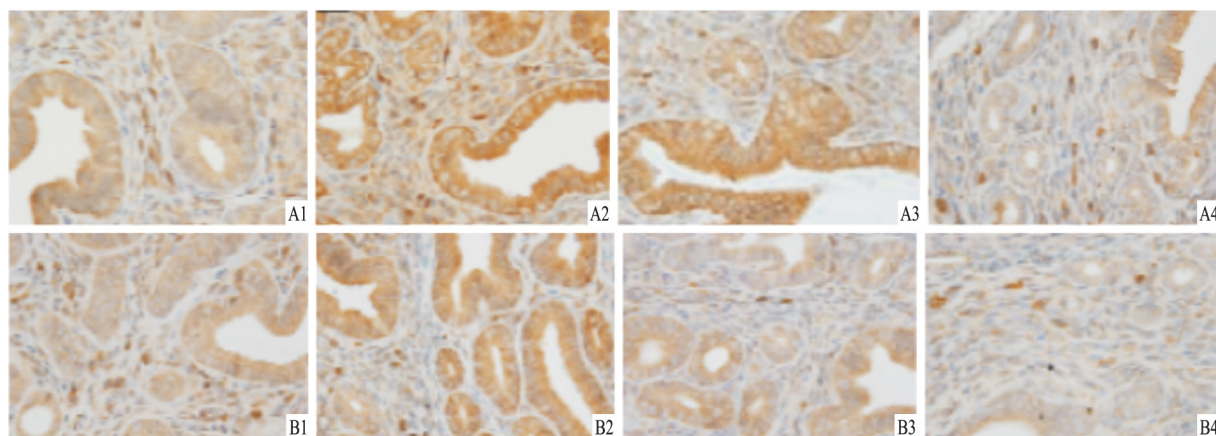


图 2 galectin-3 在动情周期小鼠子宫内膜的表达 $\times 400$

A: CON 组; B: HT 组; 1: 动情前期; 2: 动情期; 3: 动情后期; 4: 动情间期

2.3 免疫组化光镜结果 光镜下可见 galectin-3 在各动情周期小鼠子宫内膜组织中均有表达,呈棕黄色颗粒,主要分布于腔上皮、腺上皮胞质中,尤其是顶端面,间质细胞胞质中分布较少,各细胞核中则几乎无分布。见图 2。

2.4 免疫组化 AOD 值结果 与 CON 组比较,HT 组 galectin-3 的 AOD 值在动情期、动情后期降低 ($P < 0.05$),而在动情前期、动情间期的差异无统计学意义。见表 2。

2.5 RT-PCR 结果 与 CON 组比较,HT 组 galectin-3 mRNA 在四期间的表达均降低 ($P < 0.05$),差异有统计学意义。见表 3。

表 2 两组小鼠动情周期免疫组化染色 AOD 值 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

项目	CON 组	HT 组	t 值
动情前期	0.082 $\pm$ 0.002	0.083 $\pm$ 0.002	-1.370
动情期	0.202 $\pm$ 0.004	0.164 $\pm$ 0.003*	8.069
动情后期	0.140 $\pm$ 0.002	0.080 $\pm$ 0.003*	19.593
动情间期	0.045 $\pm$ 0.003	0.043 $\pm$ 0.002	0.356

与 CON 组比较: * $P < 0.05$

表 3 两组小鼠动情周期 galectin-3 mRNA 表达水平 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

项目	CON 组	HT 组	t 值
动情前期	0.726 $\pm$ 0.019	0.314 $\pm$ 0.010*	18.766
动情期	1.182 $\pm$ 0.026	0.654 $\pm$ 0.020*	16.141
动情后期	0.748 $\pm$ 0.021	0.356 $\pm$ 0.020*	13.445
动情间期	0.712 $\pm$ 0.013	0.304 $\pm$ 0.022*	15.762

与 CON 组比较: * $P < 0.05$

2.6 小鼠子宫组织细胞因子水平 HT 组 IL-2 水平 (0.346 ± 0.015) 低于 CON 组 (0.712 ± 0.020) ($P < 0.05, t = 14.461$); IL-4 水平 (0.333 ± 0.015) 低于 CON 组 (0.676 ± 0.021) ($P < 0.05, t = 13.333$),差异有统计学意义。

3 讨论

阴道涂片法是目前常用的小鼠动情周期判定方法之一,本实验先采用阴道脱落细胞瑞氏染色涂片法确定小鼠动情周期后,再结合 HE 染色法光镜下观察各期小鼠子宫内膜形态。宋婉玲等^[8]的研究表明,动情期是排卵并接受交配的最佳时期,此期内膜较其他三期明显变厚,故本实验直接选取 CON 组和 HT 组的动情期 HE 染色涂片进行观察。HE 染色显示,HT 组的子宫内膜肉眼较 CON 组变厚,腺体也较大而多,推测可能是由于造模成功导致桥本鼠子宫出现上述结果,具体机制尚不清楚。

免疫组化结果示,galectin-3 主要表达于子宫内膜腔上皮、腺上皮和基质细胞细胞质,且腔上皮表达强于腺上皮与基质,这与 Popovici et al^[9]的文献报道一致。免疫组化法与 RT-PCR 法显示,HT 组 galectin-3 表达在动情期较 CON 组降低,这提示动情期作为参与妊娠的关键时期,其出现可能有利于 galectin-3 的表达;同时提示 HT 组小鼠子宫内膜虽具有接受胚胎植入的能力,但其中 galectin-3 的低表达可能减弱了内膜基质细胞间的黏附作用,不利于维持妊娠。Quintino-Moro et al^[1]在文中也提及 HT 女性患者可以受孕,但受孕概率较低。此外,免疫组化与 PCR 法显示,HT 组 galectin-3 在动情后期表达低于 CON 组,而动情前、间期两组无差异,推测可能是由于 galectin-3 表达和性激素含量有关,而性激素的分泌受动情周期调控。Talebi et al^[10]的研究表明,受精后动情后期雌激素水平开始降低,孕激素水平逐渐升高。galectin-3 含量受雌孕激素调控,且孕激素能够协同 galectin-3 表达增加^[11];若未受精,后期黄体萎缩,孕激素开始退化^[11]。这提示 HT 组的较低受孕率可能导致后期孕激素含量降低,促使 galectin-3 表达低于 CON 组。galectin-3 mRNA 和蛋白质的表达谱在动情周期中的差异,可能是转录后调控使 galectin-3 蛋白的稳定性受到了影响,Yang et al^[6]研究 galectin-3 在基因与蛋白水平的表达也不完全一致。

本实验 HT 小鼠是通过尾部皮下注射免疫球蛋白进行造模,对于 HT 组小鼠动情期蛋白的低表达推测可能与子宫局部的免疫状况相关。有报道^[12-13]表明,IL-2、IL-4 是免疫机制平衡中相对立的两种细胞因子。IL-2、IL-4 在体内主要是由活化的 T 淋巴细胞产生,T 淋巴细胞存在于机体各个器官,包括子宫组织,其中 IL-2 主要起促进炎症作用,

IL-4 主要起抵抗炎症作用^[12-13]。本实验通过 CBA 法检测两组小鼠子宫局部 IL-2、IL-4 的水平。结果显示,HT 组的 IL-2、IL-4 较对照组降低,提示 HT 小鼠体内的免疫机制可能发生失衡,并推测这可能与 HT 组小鼠 galectin-3 蛋白的低表达有关。Karlsson et al^[14]的研究表明,galectin-3 参与 IL-2 及中性粒细胞介导的炎症反应并在炎症病灶处大量产生,以清除炎症部位的炎性介质,减轻炎症反应。同时体外试验表明,galectin-3 的消除可阻断 IL-4 的存活,减弱其抗炎的效应^[15]。这提示了在本实验中,HT 组小鼠内膜的 galectin-3 可能倾向于调节促炎与抗炎反应的稳定,维持免疫机制的平衡,使得自身水平处于不断变化之中。Kouo et al^[7]的研究表明 galectin-3 可通过免疫调节改变机体免疫状态的平衡。

综上所述,HT 小鼠子宫内膜 galectin-3 蛋白在不同周期均有表达,动情期升高明显,但较正常对照组降低,提示桥本小鼠可以妊娠,但在受精结合的关键环节即动情期可能受到影响。对于其妊娠受到影响的原因,推测可能与其子宫内膜局部细胞因子的改变有关。

参考文献

- Quintino-Moro A, Zantut-wittmann D E, Tambascia M, et al. High prevalence of infertility among women with Graves' disease and hashimoto's thyroiditis [J]. Int J Endocrinol, 2014, 2014 (11): 982705.
- Zheng Q, Zhang D, Yang Y U, et al. MicroRNA-200c impairs uterine receptivity formation by targeting FUT4 and $\alpha 1,3$ -fucosylation [J]. Cell Death Differ, 2017, 24(12): 2161-72.
- De Oliveira F L, Gatto M, Bassi N, et al. Galectin-3 in autoimmunity and autoimmune diseases [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2015, 240(8): 1019-28.
- Yang H, Lei C, Zhang W. Expression of galectin-3 in mouse endometrium and its effect during embryo implantation [J]. Reprod Biomed Online, 2012, 24(1): 116-22.
- 黄丽,陈晓蓉,张荣宜. β 半乳糖凝集素-3 在胚泡植入早期小鼠子宫内膜中的表达 [J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(11): 1121-4.
- 宋婉玲,任亚萍,陶旋,等. 小鼠动情各期子宫内膜的显微结构及动情期凋亡因子在生殖器官的表达 [J]. 解剖学杂志, 2016, 39(2): 142-4.
- Kouo T, Huang L, Pucsek A B, et al. Galectin-3 shapes antitumor immune responses by suppressing CD8⁺ T cells via LAG-3 and inhibiting expansion of plasmacytoid dendritic cells [J]. Cancer Immunol Res, 2015, 3(4): 412-23.
- Popovici R M, Krause M S, Germeyer A, et al. Galectin-9: a new endometrial epithelial marker for the mid- and late-secretory and decidual phases in humans [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2005,

- 90(11):6170–6.
- [9] Talebi J, Moghaddam A, Sourì M, et al. Steroid hormone profile of Markhoz does(Iranian Angora) throughout estrous cycle and gestation period [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2012, 44(2):355–60.
- [10] Yang H, Yin J, Ficarrota K, et al. Aberrant expression and hormonal regulation of Galectin-3 in endometriosis women with infertility [J]. *J Endocrinol Invest*, 2016, 39(7):785–91.
- [11] Stewart R A, Crosier A E, Pelican K M, et al. Progestin priming before gonadotrophin stimulation and AI improves embryo development and normalises luteal function in the cat. [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2015, 27(2):360–71.
- [12] Khanolkar A, Williams M A, Harty J T. Antigen experience shapes phenotype and function of memory Th1 cells [J]. *PloS One*, 2013, 8(6):e65234.
- [13] Hurdal R, Ndlovu H H, Revaz-Breton M, et al. IL-4-producing B cells regulate T helper cell dichotomy in type 1- and type 2-controlled diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(40):E8430–9.
- [14] Karlsson A, Christenson K, Matlak M, et al. Galectin-3 functions as an opsonin and enhances the macrophage clearance of apoptotic neutrophils [J]. *Glycobiology*, 2009, 19(1):16–20.
- [15] Acosta-Rodríguez E V, Montes C L, Motrán C C, et al. Galectin-3 mediates IL-4-induced survival and differentiation of B cells: functional cross-talk and implications during *Trypanosoma cruzi* infection [J]. *J Immunol*, 2004, 172(1):493–502.

Expression of galactose agglutinin-3 in endometrium of Hashimoto's thyroiditis mice

Li Li, Fan Hua, Xia Qin, et al

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

Abstract Objective To study the distribution and expression of galactose agglutinin-3 (galectin-3) in the estrus cycle of mice with Hashimoto's thyroiditis (HT). **Methods** Sixty-four clean grade NOD female mice were randomly divided into normal control group (Con group) and Hashimoto's thyroiditis group (HT group), thirty-two in each group. The model of Hashimoto's thyroiditis was established by subcutaneous injection of pig thyroglobulin into the tail root of mice. The serum thyroid hormone and antibody levels were measured by electrochemiluminescence immunoassay (ECL) and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and the estrus cycle of mice was determined by Swiss staining of vaginal exfoliated cells. The morphology of mouse endometrium was observed by HE staining, the distribution and expression of galectin-3 in estrous cycle of mouse endometrium were observed by immunohistochemical staining, and the expression of galectin-3 mRNA in estrous cycle of mouse endometrium was detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Determination of cytokine levels in uterine tissue by cytometric bead array (CBA). **Results** There was no significant difference between thyroid hormone level and CON group ($P > 0.05$), but the serum antibody level (TgAb-TPOAb) of HT group was higher than that of CON group ($P < 0.05$). The results of HE staining showed that the endometrium was thicker in estrus than that in Con group, the luminal epithelium was mostly branched villous structure, and the lamina propria gland was more and larger than that in Con group. Immunohistochemical staining RT-PCR showed that the expression of galectin-3 protein and mRNA in the endometrium of the two groups was significantly higher than that in the estrous phase ($P < 0.05$). The expression of galectin-3 protein and mRNA in the endometrium of the HT group was lower than that in the Con group during estrus ($P < 0.05$). The results of CBA showed that IL-2 and IL-4 were lower in the control group than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of galectin-3 in endometrium of mice with Hashimoto's thyroiditis is significantly increased during estrus, but decreased compared with the control group, which may be related to the changes of local cytokines in the uterus of mice with Hashimoto's thyroiditis.

Key words Hashimoto's thyroiditis; galectin-3; endometrium; estrous cycle; cytokines