

# 不同治疗方法对 Graves 病患者外周血淋巴细胞亚群的影响

赵永强 田德增 魏晓华 陈瑞锋 王升 陈贵存 高用琴 王利强

**【摘要】目的** 探讨抗甲状腺药物、<sup>131</sup>I、外科手术对 Graves 病患者外周血淋巴细胞亚群的影响。**方法** 选取 106 例符合 Graves 病诊断的门诊及住院患者, 根据患者实际情况分为抗甲状腺药物组 (39 例)、<sup>131</sup>I 治疗组 (48 例)、甲状腺次全切除术组 (19 例), 于治疗前及治疗后 3、6、12 个月采用化学发光免疫仪检测游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、促甲状腺激素 (TSH) 水平。电化学发光仪检测 TSH 受体抗体 (TRAb)。流式细胞术检测 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> 等水平。**结果** 治疗后 3 个月, 与其他两组相比, 甲状腺次全切除术组游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TRAb 水平降低, TSH 水平升高 ( $F=52.95\sim 126.81, P$  均  $<0.05$ )。治疗后 6 个月, <sup>131</sup>I 治疗组与抗甲状腺药物组相比, 游离 T<sub>3</sub> 水平有降低趋势, 但无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 游离 T<sub>4</sub>、TSH 无明显差异 ( $P$  均  $>0.05$ ), 而 TRAb 水平的变化有统计学意义 ( $F=42.69, P<0.05$ )。治疗后 12 个月, 各治疗组游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH、TRAb 趋向正常水平。治疗前, 3 组患者 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> 的差异无统计学意义。治疗后各时间点, 与其他两组相比, 甲状腺次全切除术组 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 水平均最低 ( $F=3.48\sim 68.28, P$  均  $<0.05$ ); 与抗甲状腺药物组相比, 治疗 3 个月后, <sup>131</sup>I 治疗组 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> 明显升高 ( $F=13.85\sim 68.28, P$  均  $<0.05$ ), 随着治疗时间的延长各指标逐渐降低。相关性分析表明, 游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TRAb 与 CD3<sup>+</sup> ( $r=0.319, 0.402, 0.426, P$  均  $<0.01$ )、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> ( $r=0.467, 0.526, 0.453, P$  均  $<0.01$ )、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> ( $r=0.493, 0.462, 0.241, P$  均  $<0.01$ ) 呈正相关, 与 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> ( $r=-0.422, -0.523, -0.344, P$  均  $<0.01$ )、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) ( $r=-0.597, -0.543, -0.487, P$  均  $<0.01$ ) 呈负相关。TSH 与 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) ( $r=0.436, 0.474, P$  均  $<0.01$ ) 呈正相关, 与 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> ( $r=-0.360, -0.522, -0.530, P$  均  $<0.01$ ) 呈负相关。**结论** 不同的治疗方法对 Graves 病患者外周淋巴细胞亚群产生不同的影响, 检测外周淋巴细胞亚群的水平对 Graves 病的治疗有一定的指导意义。

**【关键词】** Graves 病; 甲状腺功能; 淋巴细胞亚群

**Effects of different therapeutic methods on peripheral blood lymphocyte subgroups in patients with Graves' disease** Zhao Yongqiang\*, Tian Dezeng, Wei Xiaohua, Chen Ruifeng, Wang Sheng, Chen Guicun, Gao Yongqin, Wang Liqiang. \*Department of Endocrinology, Anyang District Hospital, Anyang 455000, China

**【Abstract】 Objective** To explore the influences of anti-thyroid drug, <sup>131</sup>I and surgery on peripheral blood lymphocyte subgroups in patients with Graves' disease. **Methods** A total of 106 inpatients and outpatients with Graves' disease were included. According to their therapeutic method of Graves' disease, patients were divided into 3 groups: 39 patients in anti-thyroid drug therapy group, 48 patients in <sup>131</sup>I therapy group, 19 patients in surgery therapy group. Before and 3, 6, 12 months after treatment, free T<sub>3</sub>, free T<sub>4</sub>, and thyroid stimulating hormone (TSH) were tested by chemiluminescence immunoassay, TSH receptor antibody (TRAb) was tested by electro-chemiluminescence immunoassay and CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>), CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> were tested by flow cytometry. **Results** After treatment for 3 months, compared with anti-thyroid drug therapy group and <sup>131</sup>I therapy group, levels of free T<sub>3</sub>, free T<sub>4</sub>, TRAb in surgery therapy group were decreased, but level of TSH was increased ( $F=52.95\sim 126.81, all P<0.05$ ). After treatment for 6 months, compared with anti-thyroid drug therapy group, levels of free T<sub>3</sub> in <sup>131</sup>I therapy group was decreased, although without statistical significance ( $P>0.05$ ); level of free T<sub>4</sub> and TSH had no significance ( $all P>0.05$ ), whereas TRAb was different ( $F=42.69, P<0.05$ ). After treatment for 12 months, free T<sub>3</sub>, free T<sub>4</sub>, TSH and TRAb in

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2015.04.005

作者单位: 455000 河南省安阳地区医院内分泌科(赵永强, 田德增, 魏晓华, 高用琴), 心内科(陈瑞锋), 临床试验室(王升), 输血科(陈贵存), 核医学科(王利强)

three groups were gradually returned to normal. Before treatment, there were no differences of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>), CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> between the three groups. After treatment, the levels of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> in surgery therapy group were lower than those in other groups ( $F=3.48-68.28$ , all  $P<0.05$ ). After treatment for 3 months, compared with anti-thyroid drug therapy group, CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> in <sup>131</sup>I therapy group were increased greatly ( $F=13.85-68.28$ , all  $P<0.05$ ). However, all those markers were decreased gradually. The correlation analysis showed that free T<sub>3</sub>, free T<sub>4</sub> and TRAb were positively correlated with CD3<sup>+</sup> ( $r=0.319, 0.402, 0.426$ , all  $P<0.01$ ), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> ( $r=0.467, 0.526, 0.453$ , all  $P<0.01$ ), CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> ( $r=0.493, 0.462, 0.241$ , all  $P<0.01$ ), but negatively correlated with CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> ( $r=-0.422, -0.523, -0.344$ , all  $P<0.01$ ), CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) ( $r=-0.597, -0.543, -0.487$ , all  $P<0.01$ ). TSH was positively correlated with CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) ( $r=0.436, 0.474$ , all  $P<0.01$ ), but negatively correlated with CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> and CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup> ( $r=-0.360, -0.522, -0.530$ , all  $P<0.01$ ). **Conclusions** The different therapeutic methods have different impacted on peripheral blood lymphocyte subgroups in patients with Graves' disease. Detecting peripheral blood lymphocyte subgroups have a certain significance for treating Graves' disease.

**【Key words】** Graves' disease; Thyroid function; Lymphocyte subgroups

(Int J Endocrinol Metab, 2015, 35: 234-237)

目前, Graves 病的发病率明显升高。根据美国全国卫生和营养调查数据显示, 甲状腺功能亢进症(甲亢)的患病率达 1.3%, 女性约占 1%~2%, 男性相对较少<sup>[1]</sup>。国内各地报道甲亢发病率约在 0.28%~0.50%, 其中 Graves 病约占所有甲亢的 85%<sup>[2-3]</sup>。Graves 病是一类自身免疫性疾病, 通常伴有机体的免疫系统(包括细胞免疫和体液免疫)异常, 其中, T 淋巴细胞的免疫调节异常是一个主要原因<sup>[4]</sup>。国外最新研究也表明 Graves 病与 T 淋巴细胞 CD25、CD128、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 关系密切<sup>[5]</sup>。有研究表明抗甲状腺药物及介入栓塞治疗均可以在一定程度上调节机体的免疫系统, 包括 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞<sup>[6-7]</sup>。但目前关于 T 淋巴细胞与 Graves 病之间的关系尚不清楚, 本文对 Graves 病患者应用抗甲状腺药物、<sup>131</sup>I、外科手术 3 种方法治疗前、后对自然杀伤细胞和 T、B 淋巴细胞亚群分布的影响进行观察。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 根据《中国甲状腺疾病诊疗指南》(2010)诊断标准, 选取河南省濮阳市安阳地区医院 106 例符合 Graves 病的门诊及住院患者, 经医院伦理委员会批准并告知患者知情, 均为初发未接受药物治疗者。排除 Graves 病合并浸润性突眼、甲状腺 III 度肿大、妊娠或哺乳期妇女、甲亢危象、合并糖尿病、肝、肾、血液系统、免疫性疾病及近期或长期应用免疫抑制剂及糖皮质激素患者。其中男 18 例, 女 88 例, 平均年龄(39.54 ± 11.09)岁。根据患者实际治疗情况将 106 例 Graves 病患者分为抗甲状腺药物组 39 例, 男 7 例, 女 31 例, 平均年龄(38.27 ± 10.27)岁; <sup>131</sup>I 治疗组 48 例, 男 5 例, 女 27 例, 平均年龄(40.78 ± 11.34)岁; 甲状腺次全切除术组 19 例, 男 4 例, 女

30 例, 平均年龄(39.72 ± 10.38)岁。

**1.2 治疗方法** 抗甲状腺药物组: 给予甲巯咪唑片 10 mg 口服, 每天 3 次, 依据临床症状及检测的甲状腺功能调整药物用量。<sup>131</sup>I 治疗组: 采用 <sup>131</sup>I 液体口服法, 剂量依据 [MBq=(22 × 甲状腺重量(g) × (50~90) Gy)]/[24 h 摄 <sup>131</sup>I 率 × 有效半衰期(d)]。甲状腺次全切除术组: 术前均在门诊口服抗甲状腺药物治疗, 同时加用盐酸普萘洛尔片 10~30 mg, 3 次/日、口服, 症状稳定后改口服复方碘液, 甲状腺叶切除时腺体残留量的估计: 根据患者的年龄和症状不同, 保留 8~12 g。

**1.3 观察指标** 3 组均在治疗前、治疗后 3 个月、6 个月、12 个月于清晨空腹抽取肘静脉血检测游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、促甲状腺激素(TSH)、促甲状腺激素受体抗体(TRAb)、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>。我院甲状腺功能的参考值为: 游离 T<sub>3</sub>(2.53~3.90 μg/L)、游离 T<sub>4</sub>(7.50~21.50 μmol/L)、TSH(0.34~5.06 mIU/L)、TRAb(0~1.75 IU/L)

**1.4 试剂来源** 游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH 的检测试剂盒购自美国贝克曼公司(Beckman Coulter), TRAb 的检测试剂盒购自德国罗氏公司(Roche Diagnostics GmbH)。抗人单克隆抗体(单抗)及溶血素均购自法国 Immunotech 公司, 单抗包括 CD4/CD8/CD3PC5、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)/CD19-PC5 以及相应对照。

## 1.5 标本处理及检测

**1.5.1 甲状腺激素及抗体的检测** 空腹血 2 ml, 1 500 r/min( $r=400$  mm), 离心 5 min, 化学发光免疫仪分析游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH(Unicel DxI800, Beckman Coulter 公司, 美国), 电化学发光仪分析 TRAb(Cobas 6000, Roche 公司, 德国)。

**1.5.2 流式细胞术检测淋巴细胞亚群** 每一样品

测定管加入 100 μl 全血与 10 μl 特异性抗体后, 混匀, 室温避光温育 20 min 溶解红细胞; 然后加入 500 μl PBS, 室温避光 5 min, 1 500 r/min( $r=400$  mm), 离心 5 min, 弃上清液, 加入 800 μl PBS 重悬细胞, 流式细胞术分析。每个测定管分析 10 000 个淋巴细胞, 数据处理应用 System II version 3.0 分析软件, 检测结果以阳性细胞的百分率(%)表示。

1.6 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析, 正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。对于非正态分布资料正态化后进行分析, 多组间比较采用重复测量方差分析检验, 相关性分析采用 Pearson 相关分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 治疗前、后甲状腺激素及 TRAb 水平的比较 治疗前抗甲状腺药物组、<sup>131</sup>I 治疗组、甲状腺次全切除术组患者的游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH、TRAb 水平差异无统计学意义, 均显著高于正常水平。治疗后 3 个月, 与其他两组相比, 甲状腺次全切除术组游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TRAb 水平降低, TSH 水平升高( $P$  均  $< 0.05$ )。治疗后 6 个月, <sup>131</sup>I 治疗组与抗甲状腺药物组相比, 游离 T<sub>3</sub> 水平有降低趋势, 但无统计学意义( $P > 0.05$ ), 游离 T<sub>4</sub>、TSH 无明显差异( $P > 0.05$ ), TRAb 水平的变化有统计学意义( $P < 0.05$ ), 同时甲状腺次全切除术组 TRAb 水平降低最显著。治疗后 12 个月, 各治疗组游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH、TRAb 趋向正常水平(表 1)。

2.2 治疗前、后外周血淋巴细胞亚群的变化 治疗前, 3 组患者 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)、CD3-CD19<sup>+</sup> 比较差异无统计学

意义( $P$  均  $> 0.05$ )。治疗后各时间点, 与其他两组相比, 甲状腺次全切除术组 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 水平, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值均最低( $P$  均  $< 0.05$ ); 与抗甲状腺药物组相比, 治疗 3 个月后, <sup>131</sup>I 治疗组 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值、CD3-CD19<sup>+</sup> 明显升高( $P$  均  $< 0.05$ ), 随着治疗时间的延长各指标逐渐降低(表 2)。

2.3 甲状腺激素及 TRAb 与淋巴细胞的相关性 分别以游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH、TRAb 为因变量, 以 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)、CD3-CD19<sup>+</sup> 为自变量, 进行 Pearson 相关分析, 游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TRAb 与 CD3<sup>+</sup>( $r = 0.319, 0.402, 0.426, P$  均  $< 0.01$ )、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>( $r = 0.467, 0.526, 0.453, P$  均  $< 0.01$ )、CD3-CD19<sup>+</sup>( $r = 0.493, 0.462, 0.241, P < 0.01$ ) 呈正相关, 与 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>( $r = -0.422, -0.523, -0.344, P$  均  $< 0.01$ )、CD3(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)( $r = -0.597, -0.543, -0.487, P$  均  $< 0.01$ ) 呈负相关。TSH 与 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) 呈正相关( $r = 0.436, 0.474, P$  均  $< 0.01$ ), 与 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3-CD19<sup>+</sup> 呈负相关( $r = -0.360, -0.522, -0.530, P$  均  $< 0.01$ )。

## 3 讨论

Graves 病的发病与遗传和环境及自身免疫系统密切, 机体的免疫应答发生机制目前还不清楚。T 淋巴细胞持续浸润甲状腺组织是 Graves 病的特征性表现<sup>[8]</sup>。Graves 病患者外周血 T 淋巴细胞的免疫功能变化也是研究的热点, 为了解目前 Graves 病治疗方法对外周淋巴细胞亚群的影响, 本研究对 Graves 病患者外周 T 淋巴细胞在不同治疗阶段进

表 1 Graves 病患者治疗前、后血清甲状腺激素及 TRAb 的水平变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	FT <sub>3</sub> (μg/L)				FT <sub>4</sub> (μmol/L)			
		治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月	治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月
抗甲状腺药物组	39	18.09 ± 4.69	4.91 ± 2.06	3.73 ± 0.98	3.60 ± 0.84	37.24 ± 13.98	19.33 ± 5.89	16.42 ± 5.22	15.70 ± 4.04
<sup>131</sup> I 治疗组	48	17.78 ± 4.34	16.35 ± 5.53 <sup>a</sup>	3.52 ± 1.30	3.52 ± 1.33	34.15 ± 9.47	33.45 ± 8.90 <sup>a</sup>	16.54 ± 5.17	15.89 ± 4.43
甲状腺次全切除术组	19	19.44 ± 4.88	3.27 ± 0.58 <sup>ab</sup>	3.31 ± 0.35	3.24 ± 1.18	39.80 ± 11.15	14.16 ± 3.89 <sup>ab</sup>	14.21 ± 3.78	13.89 ± 3.74
F 值		0.66	121.84	1.02	0.78	1.39	66.95	1.66	1.65
P 值		>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05

  

组别	例数	TSH(mIU/L)				TRAb(IU/L)			
		治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月	治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月
抗甲状腺药物组	39	0.15 ± 0.26	0.29 ± 0.15	1.06 ± 3.20	1.00 ± 1.20	18.74 ± 7.05	9.34 ± 3.54	9.34 ± 3.54	4.75 ± 1.98
<sup>131</sup> I 治疗组	48	0.14 ± 0.25	0.18 ± 0.26	1.17 ± 2.78	1.11 ± 1.90	19.08 ± 7.00	20.95 ± 6.35 <sup>a</sup>	5.57 ± 2.23	1.74 ± 2.14 <sup>a</sup>
甲状腺次全切除术组	19	0.13 ± 0.29	2.09 ± 1.65 <sup>ab</sup>	1.90 ± 1.12	2.21 ± 2.14 <sup>ab</sup>	20.17 ± 6.60	1.95 ± 0.71 <sup>ab</sup>	1.04 ± 0.61 <sup>ab</sup>	0.74 ± 0.55 <sup>ab</sup>
F 值		0.03	52.95	0.65	3.53	0.20	126.81	42.69	38.93
P 值		>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: 与抗甲状腺药物组相比, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 <sup>131</sup>I 治疗组相比, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; FT<sub>3</sub>: 游离 T<sub>3</sub>; FT<sub>4</sub>: 游离 T<sub>4</sub>; TSH: 促甲状腺激素; TRAb: 促甲状腺激素受体抗体

表 2 Graves 病患者治疗前、后外周血淋巴细胞亚群的变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	CD3 <sup>+</sup>				CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>			
		治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月	治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月
抗甲状腺药物组	28	0.75 ± 0.06	0.74 ± 0.05	0.74 ± 0.04	0.72 ± 0.06	0.54 ± 0.80	0.52 ± 0.07	0.51 ± 0.06	0.49 ± 0.74
<sup>131</sup> I 治疗组	39	0.77 ± 0.06	0.79 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.69 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.08	0.59 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.42 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.41 ± 0.11 <sup>a</sup>
甲状腺次全切除术组	48	0.76 ± 0.37	0.68 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.67 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.05	0.38 ± 0.05 <sup>ab</sup>	0.37 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.37 ± 0.05 <sup>a</sup>
F 值		1.17	34.31	12.60	5.09	0.25	68.28	26.62	14.68
P 值		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

  

组别	例数	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>				CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> 比值			
		治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月	治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月
抗甲状腺药物组	28	0.18 ± 0.52	0.19 ± 0.05	0.19 ± 0.44	0.18 ± 0.04	3.29 ± 1.32	2.94 ± 0.98	2.77 ± 0.75	2.89 ± 1.02
<sup>131</sup> I 治疗组	39	0.18 ± 0.49	0.17 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.20 ± 0.05	0.20 ± 0.53	3.41 ± 1.21	3.86 ± 1.27 <sup>a</sup>	2.35 ± 1.13 <sup>a</sup>	2.25 ± 1.15 <sup>a</sup>
甲状腺次全切除术组	48	0.18 ± 0.05	0.23 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.22 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.23 ± 0.05 <sup>ab</sup>	3.48 ± 1.22	1.67 ± 0.35 <sup>ab</sup>	1.70 ± 0.58 <sup>ab</sup>	1.64 ± 0.58 <sup>ab</sup>
F 值		0.19	13.85	3.48	6.81	1.26	30.29	10.08	10.61
P 值		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

  

组别	例数	CD3 <sup>+</sup> (CD6 <sup>+</sup> CD6 <sup>-</sup> )				CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>+</sup>			
		治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月	治疗前	治疗后 3 个月	治疗后 6 个月	治疗后 12 个月
抗甲状腺药物组	28	0.09 ± 0.15	0.09 ± 0.14	0.10 ± 0.14	0.10 ± 0.14	0.24 ± 0.06	0.23 ± 0.06	0.21 ± 0.05	0.20 ± 0.04
<sup>131</sup> I 治疗组	39	0.09 ± 0.16	0.09 ± 0.13	0.11 ± 0.13	0.11 ± 0.14	0.24 ± 0.07	0.27 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.07	0.20 ± 0.08
甲状腺次全切除术组	48	0.11 ± 0.12	0.13 ± 0.05	0.14 ± 0.05	0.16 ± 0.04	0.27 ± 0.07	0.13 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.14 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.18 ± 0.15 <sup>ab</sup>
F 值		0.09	0.90	0.60	0.58	0.91	31.26	14.81	10.67
P 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与抗甲状腺药物组相比,<sup>a</sup>P<0.05;与<sup>131</sup>I 治疗组相比,<sup>b</sup>P<0.05

行检测,结果发现:治疗前各组的游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TSH、TRAb、CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)、CD3-CD19<sup>+</sup> 水平差异无统计学意义,治疗后 3 个月、6 个月、12 个月各治疗组存在着不同的变化,差异有统计学意义。McIver 和 Morris<sup>[9]</sup>指出,Graves 病患者细胞免疫异常主要表现在抑制性 T 细胞亚群 CD8<sup>+</sup> 的数目下降及免疫调节失衡。本研究也表明未经治疗的 Graves 病患者抑制性 T 淋巴细胞减少,失去了免疫监护,随后 B 淋巴细胞活跃,自然杀伤细胞清除能力下降,导致免疫调节障碍。目前抗甲状腺药物的治疗通常采用他巴唑或丙基硫氧嘧啶,抑制甲状腺激素的合成从而缓解症状,抗甲状腺药物是否存在免疫调节作用虽已有文献报道,但目前研究结果各有不同。有研究表明,他巴唑治疗对体液及细胞免疫均存在调节作用,可导致外周血免疫活化指标的降低<sup>[10]</sup>。本研究显示抗甲状腺药物治疗组经治疗后随着甲状腺功能好转,CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 较前降低,CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 升高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值降低,与其研究一致,说明抗甲状腺药物对 T 淋巴细胞有一定的免疫调节作用,但自然杀伤细胞、B 淋巴细胞变化不大,12 个月后甲状腺功能恢复正常,CD3<sup>+</sup>、

CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>、CD3/(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) 仍然与其他组存在差别,可能抗甲状腺药物对免疫调节作用较弱,这也是抗甲状腺药物治疗时间长,复发率高的原因之一。<sup>131</sup>I 治疗组治疗 3 个月后发现,与治疗前相比,外周淋巴细胞 CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD3-CD19<sup>+</sup> 升高,CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 降低,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值升高,自然杀伤 T 淋巴细胞无明显异常,治疗后 6 个月及 12 个月后逐渐恢复。<sup>131</sup>I 衰变发出 β 射线电离辐射对甲状腺组织产生破坏,甲状腺组织内大量淋巴细胞抗原释放入血液,引起外周 T 淋巴细胞的改变,随着甲状腺被射线破坏,针对甲状腺产生淋巴细胞表面抗原失去作用的靶器官,也逐渐恢复。甲状腺次全切除术组治疗 3 个月后,与其他两组比较存在差异,且有统计学意义,治疗 6 个月、12 个月后自然杀伤细胞、B 淋巴细胞逐渐恢复正常。手术切除了大部分甲状腺组织,同时淋巴细胞表面抗原失去靶器官,免疫异常的恢复较其他两组明显。经过 12 个月治疗,抗甲状腺药物组、<sup>131</sup>I 治疗组、甲状腺次全切除术组的甲状腺功能逐渐恢复正常,组间比较发现,甲状腺次全切除术组治疗效果相对较好,抗甲状腺药

(下转第 241 页)

组织配型、酶联免疫吸附试验、放射免疫以及微生物血清分型<sup>[4]</sup>。

TRAb 可导致 Graves 病,在不同甲状腺功能亢进症中,TRAb 有何作用,TRAb 是否可用于 Graves 病复发、胎儿或新生儿甲状腺毒症的预测,以及临床 Graves 眼病的临床评估,还需要在临床实践中进一步探索<sup>[5]</sup>。因此有必要了解 TRAb 的结构、功能以及临床诊断、治疗方面的应用。

本实验利用噬菌体表面展示技术构建了人源性 TRAb Fab 段噬菌体抗体库。TRAb 为异质性抗体<sup>[6]</sup>。因此可能通过促甲状腺激素受体抗原,在后续的工作中进一步筛选得到甲状腺刺激性抗体。甲状腺刺激性抗体可用于 Graves 病诊断技术中的定量检测,而甲状腺刺激阻断性抗体作为阻断性抗体可用于探讨自身免疫性疾病的免疫治疗,为自身免疫性疾病的诊断以及免疫治疗提供新的思路。

## 参 考 文 献

- [1] Shukra AM, Sridevi NV, Dev Chandran, et al. Production of recombinant antibodies using bacteriophages[J]. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*, 2014, 4(2): 91-98.
- [2] 陆慧琦, 钱新宇, 李爱民, 等. 人源性抗核抗体 Fab 片段的筛选及鉴定[J]. *第二军医大学学报*, 2008, 29(1): 87-91.
- [3] Coronella JA, Tellman P, Truong TD, et al. Amplification of IgG VH and VL (Fab) from single human plasma cells and B cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(20): E85.
- [4] Siddiqui MZ. Monoclonal antibodies as diagnostics; an appraisal[J]. *Indian J Pharm Sci*, 2010, 72(1): 12-17.
- [5] Barbesino G, Tomer Y. Clinical review: clinical utility of TSH receptor antibodies[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98(6): 2247-2255.
- [6] Latif R, Morshed SA, Zaidi M, et al. The thyroid-stimulating hormone receptor: impact of thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor antibodies on multimerization, cleavage, and signaling[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2009, 38(2): 319-341.

(收稿日期: 2015-02-24)

(上接第 237 页)

物组较 <sup>131</sup>I 治疗组短期治疗效果较好,而 <sup>131</sup>I 治疗组较抗甲状腺药物组远期治疗效果较好;相关性分析表明,游离 T<sub>3</sub>、游离 T<sub>4</sub>、TRAb 与 CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>呈正相关,与 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)呈负相关。TSH 与 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>(CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>)呈正相关,与 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD19<sup>+</sup>呈负相关。说明甲状腺功能的变化与外周 T 淋巴细胞关系密切,甲状腺本身也是 T 淋巴细胞攻击的靶器官。

综上所述,外周淋巴细胞亚群与 Graves 病之间关系密切,甲状腺本身可能是淋巴细胞攻击的靶器官,各种治疗方法可能是通过调节机体外周血淋巴细胞亚群来调节机体免疫应答,从而达到对 Graves 病的治疗作用,为 Graves 病诊断和治疗提供一定的指导意义,但其具体机制仍有待进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, et al. *Williams textbook of endocrinology*[M]. 12th ed. Elsevier Saunders Press, 2011: 368-411.

- [2] 高硕, 方佩华, 来则民, 等. 天津地区 Graves 病流行病学调查[J]. *中华核医学杂志*, 2002, 22(4): 197-200.
- [3] 廖二元, 莫朝辉, 主编. *内分泌学*[M], 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012, 450-476.
- [4] 沈华英, 董吉祥, 韩惠琴, 等. Graves 病患者 T 淋巴细胞亚群水平的变化[J]. *苏州医学院学报*, 2001, 21(1): 51-52.
- [5] McLachlan SM, Nagayama Y, Pichurin PN, et al. The link between Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis: a role for regulatory T cells[J]. *Endocrinology*, 2007, 148(12): 5724-5733.
- [6] 张永红, 薛元明, 潘薇, 等. 介入栓塞治疗对 Graves 病 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *现代医药卫生*, 2003, 19(5): 532-533.
- [7] 马春燕, 郭军, 高聆, 等. 抗甲状腺治疗对 Graves 病患者外周血 T、B 淋巴细胞亚群及部分协同刺激分子表达的影响[J]. *现代免疫学*, 2007, 27(1): 49-52.
- [8] Weetman AP. Graves' disease[J]. *N Engl J Med*, 2000, 343(1): 1236-1248.
- [9] McIver B, Morris JC. The pathogenesis of Graves' disease[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 1998, 27(1): 73-89.
- [10] Bossowski A, Urban M, Stasiak-Barmuta A. Analysis of changes in the percentage of B(CD19) and T(CD3) lymphocytes, subsets CD4, CD8 and their memory(CD45RO), and naïve(CD45RA) T cells in children with immune and nonimmune thyroid diseases[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2003, 16(1): 63-70.

(收稿日期: 2014-11-17)