DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20220825.004
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20220825.1321.008.html

扶正消瘿汤对实验性自身免疫性甲状腺炎大鼠的干预及免疫调节作用

乔佳君[1,2],张雨阳[1,2],石京平[1,2],夏仲元[2]✉
(1.北京中医药大学,北京 100029;2.中日友好医院中医外科,北京 100029)

[摘要] **目的**:讨论扶正消瘿汤对于实验性自身免疫性甲状腺炎(experimental autoimmune thyroiditis,EAT)模型大鼠的治疗效果及调节免疫的作用机理。**方法**:选取雌性SD大鼠40只,随机数字法选取10只做空白组,其余大鼠使用弗氏佐剂与猪甲状腺球蛋白免疫注射同时结合高碘饮水造EAT模型,成模后随机平均分3组:模型组、硒酵母片组、扶正消瘿汤组,连续灌胃2个月。测定大鼠抗甲状腺抗体、甲状腺功能、IL-38及脾脏Th17、Treg细胞,观察甲状腺组织病理。**结果**:模型组抗甲状腺抗体TPOAb、TGAb水平高于空白组($P<0.05$),淋巴细胞浸润甲状腺组织,滤泡内胶质分布不均匀且部分被破坏,提示造模成功。硒酵母片组与扶正消瘿汤组干预后TPOAb和TGAb水平明显低于模型组($P<0.05$),扶正消瘿汤改善甲状腺滤泡破坏及淋巴细胞浸润的作用较硒酵母片组更明显($P<0.05$)。与空白组对比,模型组大鼠T3、FT3、T4、FT4水平升高,IL-38水平降低,Th17%升高,Th17/Treg升高($P<0.05$)。与模型组对比,硒酵母片组与扶正消瘿汤组的T4水平降低、IL-38水平升高($P<0.05$),但Th17%以及Th17/Treg的降低差异无统计学意义($P>0.05$)。各组间Treg%比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论**:扶正消瘿汤能通过调节EAT大鼠免疫,明显降低抗甲状腺抗体水平,改善甲状腺组织淋巴细胞浸润和滤泡破坏。

[关键词] 扶正消瘿汤;实验性自身免疫性甲状腺炎;抗甲状腺自身抗体;IL-38
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2022)23-1779-06

Intervention and immune regulation of Fuzheng Xiaoying Decoction on experimental autoimmune thyroiditis model rats

QIAO Jia-jun[1,2], ZHANG Yu-yang[1,2], SHI Jing-ping[1,2], XIA Zhong-yuan[2]✉
(1. *Beijing University of Chinese Medicine*, *Beijing* 100029, *China*; 2. *Department of Chinese Medicine Surgery*, *China-Japan Friendship Hospital*, *Beijing* 100029, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by National Natural Science Foundation of China* (81973855)
[*Author*]: *QIAO Jia-jun*, *Ph.D candidate*, *E-mail*: 1335528404@qq.com.
[*Correspondence to*]: *XIA Zhong-yuan*, *Professor*, *Chief Physician*, *Doctoral Supervisor*, *E-mail*: 2718421708@qq.com.
Received: 2022-06-10 *Revised*: 2022-08-21 *JHMU*, 2022;28(23):1779-1784

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective**: To investigate the effect of Fuzheng Xiaoying Decoction on experimental autoimmune thyroiditis (EAT) model rats and explore its possible mechanism of immune regulation. **Methods**: Among the 40 female SD rats, 10 were randomly selected as the blank group, and the rest were immunized with pig thyroglobulin and Freund′s adjuvant combined with high iodine feeding to make the EAT model. After the model was established, they were randomly divided into three groups: the model group, the selenium yeast tablet group and the Fuzheng Xiaoying Decoction group, which were continuously gavaged for 2 months. The anti thyroid autoantibodies, thyroid function, IL-38 and Th17/Treg distribution were measured. The pathological changes of thyroid tissue were observed by HE staining. **Results**: Compared with the blank group, the levels of TPOAb and TGAb in the model group were significantly higher($P<0.05$). Lymphocyte infiltration was seen in the thyroid tissue of the model group, and also the thyroid follicles were partially destroyed, the shape was irregular, and the colloid distribution was uneven, indicating that the modeling was successful. Compared with the model group, the levels of TPOAb and TGAb in the selenium yeast

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81973855)
[作者简介] 乔佳君,博士研究生在读,E-mail:1335528404@qq.com。
[通讯作者] 夏仲元,教授,主任医师,博士生导师,E-mail:2718421708@qq.com。
[收稿日期] 2022-06-10 [修回日期] 2022-08-21 网络出版时间:2022-08-25 17:40:57

tablet group and the Fuzheng Xiaoying Decoction group decreased significantly ($P<0.05$). And the Fuzheng Xiaoying Decoction group had more significant improvement in thyroid follicle destruction and lymphocyte infiltration than the selenium yeast tablet group ($P<0.05$). Compared with the blank group, the levels of T3, T4, FT3 and FT4 in the model group increased, the level of IL-38 decreased, the proportion of Th17 increased, and the ratio of Th17/Treg increased ($P<0.05$). Compared with the model group, T4 level decreased, IL-38 level increased in the selenium yeast tablet group and the Fuzheng Xiaoying Decoction group ($P<0.05$). But there was no statistically significant difference in the reduction of Th17 proportion and Th17/Treg ratio between the above two groups and the model group ($P>0.05$). There was no significant difference in Treg ratio among the groups. **Conclusion**: Fuzheng Xiaoying Decoction can significantly reduce the level of anti thyroid autoantibodies in EAT rats by regulating the immunity of EAT rats, and improve the follicular destruction and lymphocyte infiltration of thyroid tissue in rats.

[KEYWORDS] Fuzheng Xiaoying Decoction; Experimental autoimmune thyroiditis; Anti thyroid autoantibody; IL-38

桥本氏甲状腺炎(hashimoto's thyroiditis,HT)以抗甲状腺抗体阳性为临床主要诊断标准,中国成年人群甲状腺抗体阳性的患病率为14.19%,位居甲状腺疾病第2位[1]。本病易合并甲状腺功能异常,尤其是引发甲减的主要原因,同时,自身抗体升高与不孕或女性不良妊娠结局相关。其发病机制尚不清楚,其中自身免疫因素占据主要因素之一,Th17-Treg细胞平衡失调是近年来研究的热点,而IL-38作为白介素1家族成员,可以发挥抗炎特性,抑制Th17成熟,调节Th17-Treg平衡[2]。现有研究表明硒元素的补充如服用硒酵母片能够降低抗甲状腺抗体,减轻甲状腺损害,可作为HT的辅助疗法[3]。笔者认为HT发生发展的关键病机为本虚标实,以扶正消瘿为主要治疗原则[4],夏仲元教授自拟的扶正消瘿汤是常用于HT临床治疗的经验方。本实验以扶正消瘿汤作为实验组用药,通过硒酵母片阳性对照,观察扶正消瘿汤降低EAT大鼠抗甲状腺抗体、改善甲状腺功能和组织病理损伤的作用,以及对IL-38水平和Th17-Treg平衡的影响,以期为扶正消瘿汤临床应用提供实验研究依据。

1 材料与方法

1.1 动物

40只SPF级雌性6~8周龄的Sprague-Dawley大鼠,体重160~180 g,购于斯贝福(SCXK(京)2019-0010);在中日医院临研所SPF级小动物实验室(符合国标GB14925-2010)中饲养。

1.2 伦理审查

本实验已经通过中日医院实验动物伦理(编号:zryhyy21-21-03-06)。

1.3 中药制备

扶正消瘿汤组成为:生黄芪20 g、穿山龙15 g、炒白术15 g、法半夏10 g、夏枯草12 g、当归10 g、玄参15 g、土贝母15 g、炙甘草3 g等,生药材购自国药集团北京华邈药业有限公司及北京美康堂医药科技有限公司,将成人设为60 kg后按照6.2的大鼠与人体重剂量折算系数折算生药量,上述中药饮片,煎煮2次,滤过后合并,浓缩为生药量1.715 g/mL的药液,高温高压灭菌后分装,冷藏保存。

1.4 药物与试剂

硒酵母片(商品名:西维尔,批号:210204)、猪甲状腺球蛋白(PTg,天府新区华阳正龙生化制品研究室,批号:202102);完全弗氏佐剂(CFA,美国Sigma,批号:SLBW7430)、不完全弗氏佐剂(IFA,美国Sigma,批号:SLCB8702);碘化钠(NaI,北京酷来搏科技有限公司,批号:CS30143404);甲状腺球蛋白抗体(thyroglobulinantibody,TGAb)、游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine,FT3)、三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine,T3)、游离甲状腺素(free thyroxine,FT4)、甲状腺素(thyroxine,T4)、促甲状腺激素(thyroid-stimulating hormone,TSH)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidaseantibody,TPOAb)、白细胞介素38(interleukin-38,IL-38)酶联免疫检测试剂盒(江苏酶免实业有限公司,批号分别为:20210922-0582、20210922-70747、20210922-20356、20210922-0584、20210922-0573、20210922-20215、20210922-0519、220415-71280R1);Pacific Blue anti-rat CD45 Antibody (Biolegend, USA, Cat# 202225);FITC anti-rat CD3 Antibody(Biolegend, USA, Cat# 201403);CD8 PerCP(Biolegend, USA, Cat# 201712);PE-Cy7 Mouse Anti-Rat CD4(BD, USA, Cat#561578);CD25 PE(Thermo Fisher,USA, Cat#12-0390-82);FOXP3 APC(Thermo Fisher, USA, Cat#17-5773-82);Rat IgG2a(Thermo Fisher,USA, Cat#12-4321-80/17-4321-81);IL-17A PE(Thermo Fisher,USA, Cat#12-7177-81)。

1.5 仪器

正置光学显微镜BX-53(Olympus公司);酶标分析仪RT-6100(Rayto公司),;37 ℃、5%CO_2孵箱(Thermo Fisher公司);流式细胞仪FACS(Becton Dickinson公司)。

1.6 方法

1.6.1 EAT大鼠模型的建立 随机数字表法取10只SD大鼠作为空白组，其余大鼠通过给予含0.05% NaI的高碘饮水，以及弗氏佐剂与PTg混合免疫注射，分为初次免疫1周和加强免疫6周，每次每只大鼠注射含PTg 100 μg，造EAT模型，成模后随机平均分为3组：模型组、硒酵母片组、扶正消瘿汤组。具体造模方法参照本课题组前期研究[5,6]。空白组同时间点则予普通动物饮用水，每次给予PBS缓冲液0.2 mL皮下注射。造模后大鼠血清中TGAb、TPOAb升高，则符合疾病临床诊断。甲状腺组织内有淋巴细胞和浆细胞的浸润，胶质减少，滤泡缩小，甚至破坏，以及后期出现纤维化改变等符合疾病病理诊断[7]。

1.6.2 分组及给药 造模成功后，扶正消瘿汤组大鼠给予10 mL·kg^{-1}·d^{-1}扶正消瘿汤；硒酵母片组给予20.67 μg·kg^{-1}·d^{-1}硒酵母片[按成人剂量3.33 μg·kg^{-1}·d^{-1}计算]；空白组与模型组大鼠给予10 mL·kg^{-1}·d^{-1}双蒸水灌胃。测体重根据体重调整给药剂量，疗程为2个月，末次给药后各组大鼠禁食12 h后取材。

1.6.3 检测指标

1.6.3.1 抗甲状腺抗体TPOAb、TGAb检测 取材当天，各组大鼠禁食禁水，腹腔注射3%戊巴比妥钠(0.1 mL/100 g)麻醉，每只大鼠通过腹主动脉采血，收集5 mL全血，离心(3 000 r/min)10 min后获得血清。遵从大鼠TPOAb、TGAb的ELISA试剂盒说明书分别检测TPOAb、TGAb水平。

1.6.3.2 甲状腺功能及IL-38检测 同上述方法获得大鼠血清，遵从大鼠T3、FT3、T4、FT4、TSH和IL-38的ELISA试剂盒说明书分别检测T3、FT3、T4、FT4、TSH和IL-38浓度。

1.6.3.3 组织病理形态观察 大鼠甲状腺取材称重后用10%的中性福尔马林溶液固定48 h后进行石蜡包埋，连续切片4 μm厚，予苏木精和伊红进行染色，脱水透明后用中性树胶封片。于电子显微镜下观察大鼠甲状腺组织，包括上皮细胞和滤泡的大小形态、淋巴细胞的浸润程度、间质的纤维化程度。光镜下观察病理变化分级指数：正常甲状腺组织计为0分；局灶性甲状腺炎计为1分；不超过40%的严重甲状腺炎计为2分；40%到80%的弥漫性甲状腺炎计为3分；超过80%的弥漫性甲状腺炎计为4分[8]。

1.6.3.4 Th17及Treg流式细胞术检测 每组取5只大鼠脾脏，制备脾细胞悬液，用筛子过滤，加入相应染色抗体，孵育后上机检测。其中$CD4^+IL\text{-}17A^+$用于确定Th17；$CD4^+CD25^+FoxP3^+$用于确定Treg。

1.7 统计学处理

采用SPSS 25.0统计软件，计量资料用$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较其中符合正态分布时采用One-Way ANOVA检验，不符合正态分布时多组间比较用非参数检验；多重比较方差齐者采用LSD检验，方差不齐者用TamhaneT2检验。$P<0.05$差异有统计学意义。

2 结果

2.1 扶正消瘿汤对EAT大鼠抗甲状腺抗体的作用

模型组TPOAb和TGAb水平显著高于空白组($P<0.05$)，说明模型成功。硒酵母片组与扶正消瘿汤组的TPOAb和TGAb水平明显低于模型组($P<0.05$)。但硒酵母片组与扶正消瘿汤组之间的TPOAb和TGAb水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

表1 治疗组对EAT模型大鼠TPOAb和TGAb水平的影响(IU/mL，n=10，$\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effect of the treatment group on TPOAb and TGAb levels of EAT model rats(IU/mL，n=10，$\bar{x}\pm s$)

组别	TPOAb	TGAb
空白组	11.20±4.13	130.13±26.69
模型组	22.24±5.19*	204.32±34.12*
硒酵母片组	15.98±3.05*△	162.34±29.84*△
扶正消瘿汤组	15.67±4.39*△	173.98±28.17*△
F	10.848	9.966
P	0.000	0.000

注：对比空白组，*$P<0.05$；对比模型组，△$P<0.05$。

2.2 扶正消瘿汤对EAT大鼠甲状腺组织病理的影响

空白组甲状腺滤泡排列紧密且规则，腔内均匀分布着淡红色胶质，上皮细胞呈低柱状，未见淋巴细胞浸润。小叶间有薄壁纤维组织间隔，未见纤维化(图1A)。模型组甲状腺滤泡排列紊乱、其内胶质不均匀，部分滤泡破坏，可见大量淋巴细胞浸润，上皮细胞有的脱落到滤泡腔内，小叶间隔略有增宽(图1B)，提示造模成功。硒酵母组滤泡内胶质含量较正常组少，可见部分滤泡结构破坏，上皮细胞有的脱落到滤泡腔内，可见少量淋巴细胞分布，小叶间隔增宽，纤维组织增生，与模型组对比其淋巴细胞浸润减少(图1C)。扶正消瘿汤组甲状腺滤泡形

态基本规则，腔内胶质分布较均匀，可见散在淋巴细胞，与模型组对比其滤泡破坏和淋巴细胞浸润均有改善（图1D）。观察各组大鼠甲状腺组织病理分级，发现与空白组比较，模型组病理分级更高（$P<0.05$）。与模型组比较，扶正消瘿汤组病理分级降低（$P<0.05$）。同时扶正消瘿汤组病理分级较硒酵母组更低（$P<0.05$）。见表2。

2.3　扶正消瘿汤对EAT大鼠甲状腺功能的影响

模型组T3、FT3、T4、FT4水平均高于空白组（$P<0.05$）；而两组TSH水平比较差异未见统计学意义（$P>0.05$）。硒酵母片组与扶正消瘿汤组的T4水平明显低于模型组（$P<0.05$）。但硒酵母片组、扶正消瘿汤组分别与模型组之间的T3、FT3、FT4水平比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。见表3。

2.4　扶正消瘿汤对EAT模型大鼠IL-38及Th17-Treg的影响

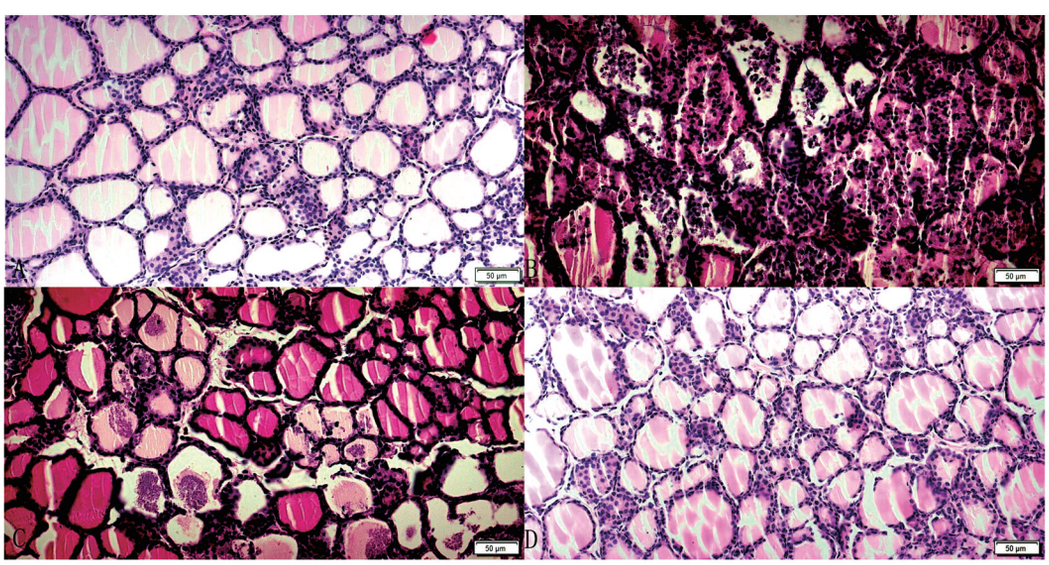
与空白组比较，模型组IL-38水平降低，Th17%升高，Th17/Treg比值升高（$P<0.05$）。硒酵母片组与扶正消瘿汤组的IL-38水平高于模型组（$P<0.05$）。用药干预的两组Th17%和Th17/Treg均低于模型组，但差异尚无统计学意义（$P>0.05$）。各组间Treg%差异比较均无统计学意义（$P>0.05$）。见表4。

表2　治疗组对EAT模型大鼠甲状腺病理分级的影响（n=10，$\bar{x}\pm s$）

Tab 2　Effect of the treatment group on thyroid pathological grade in EAT model rats（n=10，$\bar{x}\pm s$）

组别	甲状腺病理分级
空白组	0.50±0.55
模型组	2.33±0.82*
硒酵母片组	2.33±0.52
扶正消瘿汤组	1.17±0.98△#
F	14.860
P	0.002

注：对比空白组，*$P<0.05$；对比模型组，△$P<0.05$；对比硒酵母组，#$P<0.05$。



注：A：空白组；B：模型组；C：硒酵母组；D：扶正消瘿汤组；标尺＝50 μm

图1　大鼠甲状腺组织HE染色（×200倍）

Fig 1　HE staining of rat thyroid tissue（200×）

表3　治疗组对EAT模型大鼠甲状腺功能的影响（n=10，$\bar{x}\pm s$）

Tab 3　Effect of the treatment group on thyroid function of EAT model rats（n=10，$\bar{x}\pm s$）

组别	T3(ng/mL)	T4(ng/mL)	FT3(pmol/L)	FT4(pmol/L)	TSH(mU/L)
空白组	5.78±1.46	177.38±72.03	3.64±1.81	20.08±5.90	20.37±2.96
模型组	10.18±1.91*	351.98±82.78*	10.75±3.74*	33.79±8.90*	26.99±3.79
硒酵母片组	8.99±2.75*	232.29±104.34△	9.44±2.99*	28.03±7.73*	24.48±7.28
扶正消瘿汤组	8.06±1.98*	213.78±81.74△	8.45±2.98*	31.70±5.86*	23.20±6.52
F	7.432	7.454	9.988	6.492	7.030
P	0.001	0.001	0.000	0.001	0.071

注：对比空白组，*$P<0.05$；对比模型组，△$P<0.05$。

表4　治疗组对EAT模型大鼠IL-38及Th17/Treg的影响(n=5,$\bar{x}\pm s$)

Tab 4　Effect of the treatment group on IL-38 and Th17/Treg in rats with EAT model (n=5, $\bar{x}\pm s$)

组别	IL-38(pg/mL)	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg
空白组	143.24±13.07	4.70±1.16	13.55±1.48	0.32±0.09
模型组	73.11±15.94*	9.46±2.89*	15.36±0.62	0.63±0.08*
硒酵母片组	115.49±25.10*△	6.45±2.84	14.63±2.93	0.56±0.20
扶正消瘿汤组	127.07±20.93△	6.94±3.11	15.50±2.52	0.56±0.30
F	12.049	2.817	0.913	2.453
P	0.000	0.072	0.457	0.101

注:对比空白组,*P<0.05;对比模型组,△P<0.05。

3　讨论

Th17淋巴细胞主要参与诱导趋化因子和炎性细胞因子的表达,发挥促炎作用,故引起自身免疫病[9];而Treg细胞可以通过维持自身免疫耐受和控制自身活化的$CD4^+$T细胞增殖来抑制自身免疫病的发展[10]。Th17细胞作用增强,Treg细胞功能下降,可使B淋巴细胞产生大量抗体,抗体依赖性介导的细胞毒作用、补体系统的激活及自然杀伤细胞(NK细胞)介导的细胞毒作用共同导致淋巴细胞浸润甲状腺,使甲状腺滤泡结构受到破坏,导致HT的发生[11]。甲状腺自身抗体水平与HT患者抑郁、生活质量降低等症状相关,但西医治疗的主要目的是控制甲状腺功能异常,恢复甲状腺功能后患者仍有症状[12]。而中医治疗近年来大量临床研究发现在降低HT抗甲状腺抗体、改善临床症状、延缓病情发展等方面均有较好的临床疗效[13],现代医家多从肝、脾、肾论治,散结以化瘀、化痰、软坚为法,本实验首次以健脾扶正配合化痰消瘿为基本大法干预EAT。已有部分研究证明中药方剂可调节自身免疫性甲状腺炎Th17-Treg细胞平衡,如益气化痰活血方可增强Th1、Th2、Treg细胞对Th17细胞的免疫抑制作用[14],芪蛎消瘿汤则可调控IL-23/IL-17炎症轴[15]。此外,阳和汤[16]、消瘿合剂[17]、软坚消瘿颗粒[18]等均通过影响IL-6,IL-8,IL-10,IL-17及TNF-α等相关细胞因子,调控影响Th17-Treg细胞分化的Foxp3和RORγt基因表达。

HT因其甲状腺肿大为主要临床症状,属于中医“瘿病”范畴,《济生方·瘿瘤论治》和《外科正宗·瘿瘤门》中均有言瘿瘤者因气凝瘀血痰滞而成。本课题组认为痰-气-血凝滞于颈前而成瘿病,主要源于脏腑功能失调,而脾为气血生化之源,“脾气虚则四肢不用,五脏不安”,故从脾论治是关键,当健脾益气以扶正治其本。“百病皆由痰作祟”,病理因素则以痰为首,凝结于颈前两侧,故出现甲状腺肿大、结节,凝滞于周身则出现乏力气短、畏寒怕冷等症,故化痰散结以消瘿治其标[4]。本课题组前期研究发现补中益气颗粒对改善HT有良好的疗效[5,19],而扶正消瘿汤以补中益气汤合消瘰丸为底方加减,在健脾的基础上增强了化痰消瘿散结之功,对于临床改善HT患者甲状腺肿大等临床症状具有更突出的疗效[20]。本方以生黄芪为君,党参、炒白术为臣,增强黄芪的药力,共奏补中益气之功,佐以玄参、生牡蛎、土贝母化痰消瘿散结,陈皮、法半夏理气行滞,补气防壅,兼化痰散结,香附、当归理气解郁,养血和营,夏枯草消痰散结消肿,穿山龙活血除湿通络。炙甘草健脾益气,调和诸药为佐使。经现代药理学研究扶正消瘿汤组成中黄芪、白术、党参、陈皮、夏枯草、生牡蛎、当归、穿山龙、玄参、土贝母、炙甘草等药物都具有调节免疫作用[21,22]。本研究通过高碘饮水联合免疫注射法造模,并通过血清抗体和甲状腺病理确定造模成功,结果显示,扶正消瘿汤可以降低EAT模型大鼠抗甲状腺抗体水平(包括TPOAb、TGAb),且治疗作用与硒酵母片相似。同时该方可以改善病变大鼠甲状腺组织的淋巴细胞浸润和滤泡破坏程度,通过病理分级结果分析发现其疗效优于硒酵母片,表明扶正消瘿汤对于HT患者有积极作用。

此外,本研究通过对EAT大鼠模型的甲状腺功能检测结果,发现EAT大鼠成模后T3、T4、FT3、FT4水平明显高于空白组,但TSH水平组间比较并无统计学差异,处于甲状腺功能亢进期,相当于HT早期,其甲亢可能源于甲状腺滤泡受淋巴细胞、浆细胞浸润破坏后,甲状腺激素释放入血所致。唐伟等[23]研究亦发现EAT模型组FT3,FT4均较空白组显著升高(P<0.05),而TSH水平差异无统计学意义。而姚婷[24]、俞灵莺等[25]研究结果中EAT模型组TSH水平高于空白组(P<0.05),侯丽萍等[26]研究结果中EAT模型组FT3、FT4和TSH水平都高于空白组(P<0.05),亦可能由于外源性甲状腺球蛋白免疫的造模方式导致的FT3、FT4水平与TSH

水平同方向改变，但由于各文献中EAT大鼠的观察时限均1～3个月，未跟踪长期甲状腺功能的改变，具体原因有待进一步实验验证。本研究结果中扶正消瘿汤能够降低模型大鼠甲状腺激素T4水平，但对于FT3、FT4、T3的降低作用尚无统计学意义。既往研究发现临床上甲状腺功能亢进患者常表现为心肝火旺证[27]，心肝阴虚证[28]等。以健脾益气，消瘿散结为主要治法的扶正消瘿汤既往主要以甲状腺功能正常期、甲减期为主，是否能改善临床HT合并甲亢患者的甲状腺功能状态仍需进一步临床研究。

研究发现IL-38在慢性炎症性疾病中常表达异常[29]，Xu等[30]发现与健康对照组相比，HT患者的IL-38浓度降低，本研究亦发现模型组大鼠IL-38水平低于空白组（$P<0.05$），药物治疗后IL-38水平升高（$P<0.05$）。IL-38可通过与IL-1受体1、IL-36受体和IL-1受体10等潜在受体结合发挥抗炎作用，其中IL-38主要功能之一是抑制与Th17细胞因子相关的反应的诱导[31]。既往文献显示HT患者甲状腺组织和/或外周血中有异常高水平的Th17细胞和与Th17相关的促炎细胞因子[32]。本研究发现模型组Th17%和Th17/Treg比值均较空白组升高，符合既往研究。硒酵母与扶正消瘿汤治疗组Th17%和Th17/Treg比值较模型组降低，但差异尚无统计学意义。故扶正消瘿汤可能通过增加IL-38水平进而抑制Th17分化及相关细胞因子诱导的炎症反应，改善HT病情。

综上所述，本实验结果显示扶正消瘿汤可降低EAT模型大鼠抗甲状腺抗体水平，修复和减轻甲状腺组织滤泡破坏与淋巴细胞浸润，其可能的作用机制为调节IL-38水平进而抑制Th17相关炎症反应，为临床应用本方治疗HT提供了实验依据，未来可进一步探究具体作用通路，为从脾论治HT提供新的靶点和研究方向。

作者贡献度说明：

乔佳君：负责共同完成实验、论文书写、数据分析；张雨阳、石京平：负责共同完成实验及文章核对等工作；夏仲元：负责实验指导、论文指导。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Li Y, Teng D, Ba J, et al. Efficacy and safety of long-term universal salt iodization on thyroid disorders: Epidemiological evidence from 31 provinces of mainland China [J]. Thyroid : Off J Am Thyroid Assoc, 2020, 30(4): 568-579.

2 Xie L, Huang Z, Li H, et al. IL-38: A new player in inflammatory autoimmune disorders [J]. Biomol, 2019, 9(8): 345.

3 王平，王建凤，刘善新，等. 桥本氏甲状腺炎发病机制及治疗方法研究进展 [J]. 药学研究，2015，34(10)：599-603.

4 刘昕怡，彭婧，夏仲元. 扶正消瘿八法治疗桥本甲状腺炎 [J]. 中国临床保健杂志，2020，23(5)：717-720.

5 韩静，袁泉，刘昕怡，等. 补中益气颗粒对EAT大鼠甲状腺功能、甲状腺抗体的影响 [J]. 北京中医药大学学报，2018，41(12)：1007-1011.

6 刘守尧，关青青，韩静，等. 补中益气颗粒对EAT大鼠Treg/Th17细胞因子表达的影响 [J]. 北京中医药大学学报，2019，42(5)：404-408,415.

7 唐伟，贾悦. 实验性自身免疫性甲状腺炎动物模型的建立 [J]. 国外医学(免疫学分册)，2003，(4)：211-214.

8 刘晓鹃，唐汉钧. 扶正清瘿方治疗桥本氏甲状腺炎实验研究 [J]. 中医药学刊，2004，(3)：497-499.

9 Rydzewska M, Jaromin M, Pasierowskai E, et al. Role of the T and B lymphocytes in pathogenesis of autoimmune thyroid diseases [J]. Thyroid Res, 2018, 11:2.

10 Lee HJ, Li CW, Hammerstad SS, et al. Immunogenetics of autoimmune thyroid diseases: A comprehensive review [J]. J Autoimmun, 2015, 64:82-90.

11 Safdari V, Alijani E, Nemati M, et al. Imbalances in T cell-related transcription factors among patients with Hashimoto's thyroiditis [J]. Sultan Qaboos Univ Med J, 2017, 17(2): e174-e180.

12 Weetman AP. An update on the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis [J]. J Endocrinol Invest, 2021, 44(5): 883-890.

13 韩静，刘守尧. 桥本氏甲状腺炎中西医治疗研究进展 [J]. 中华中医药杂志，2019，34(11)：5327-5330.

14 杨潇. 益气化痰活血方对NOD.H-2～(h4)小鼠甲状腺Th17细胞分化调控的影响 [D]；辽宁中医药大学，2014.

15 杨潇，高天舒，曲金桥，等. 芪蛎消瘿汤对NOD.H-2h4小鼠甲状腺IL-23/IL-17轴的调控影响 [J]. 中华中医药杂志，2014，29(5)：1347-1352.

16 董笑克，吴悠，郭翔宇，等. 阳和汤对自身免疫性甲状腺炎模型大鼠辅助性T细胞亚群的影响 [J]. 中医杂志，2018，59(11)：968-972.

17 关溪，赵亮，刘力，等. 消瘿合剂对自身免疫性甲状腺炎大鼠调节性T细胞/Th17细胞轴的影响 [J]. 医药导报，2017，36(2)：136-140.

18 李叙颖，张兰，王琳，等. 软坚消瘿颗粒对肝郁脾虚型桥本甲状腺炎模型大鼠Treg和Th17细胞因子表达的影响 [J]. 吉林大学学报(医学版)，2019，45(3)：558-565.

（下转第1791页）