

DOI:10.16305/j.1007-1334.2025.z20250113008

四逆消癭方抑制 STAT3 棕榈酰化调控 Th17/Treg 平衡改善桥本甲状腺炎

俞 洋¹, 张金艳², 魏皓月¹, 杨 旭³, 齐 旭¹, 刘素荣⁴

1. 山东中医药大学第一临床医学院(山东 济南 250355); 2. 山东省妇幼保健院中医内科(山东 济南 250000); 3. 济南市中医医院内分泌科(山东 济南 250012); 4. 山东中医药大学附属医院内分泌科(山东 济南 250014)

【摘要】 目的 观察四逆消癭方(SNXY)含药血清对桥本甲状腺炎(HT)细胞的影响,并探讨其潜在的作用机制。**方法** ①制备 SNXY 含药血清,γ 干扰素(IFN-γ)干预人甲状腺正常细胞(Nthy-ori 3-1 细胞)制备 HT 细胞模型。将 Nthy-ori 3-1 细胞设为对照组(Control),HT 细胞模型分为模型组(Model)和 SNXY 含药血清低、中、高剂量组(SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G)。SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 给予对应分组体积分数为 10% 的含药血清,Control、Model 给予体积分数为 10% 的空白血清,干预 48 h。采用流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况;酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测相关指标含量;Western blot 法检测信号转导和转录激活因子 3(STAT3)、磷酸化信号转导及转录激活子 3(p-STAT3)蛋白表达量;酰基-生物素交换法、免疫共沉淀(Co-IP)结合 Western blot 法检测 STAT3 的棕榈酰化水平。②构建过表达 DHHC 型棕榈酰转移酶 7(DHHC7)慢病毒载体,将 Nthy-ori 3-1 细胞与 CD4⁺T 细胞共培养设为对照组(Control);将 HT 细胞模型与 CD4⁺T 细胞共培养分为模型组(Model)和含药血清组(SNXY),Model 转染空白质粒后设为空转组(OE-CN),Model 转染 DHHC7 过表达质粒后设为转染组(OE-DHHC7)。SNXY、OE-CN、OE-DHHC7 给予效果最佳剂量组体积分数为 10% 的含药血清干预,Control、Model 给予体积分数为 10% 的空白血清,干预 48 h。**结果** ①与 Model 比较,SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 细胞凋亡率均降低($P<0.01$);SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 中的游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、促甲状腺激素(TSH)、甲状腺过氧化物酶抗体(TPO-Ab)和甲状腺球蛋白抗体(Tg-Ab)的含量均降低($P<0.05$, $P<0.01$);SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素(IL)-6 的含量均明显降低,IL-10 和 IL-12 的含量均明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$);SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 中的 p-STAT3 表达水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$);SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 棕榈酰化水平明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。②与 Model 比较,SNXY 中的 DHHC7 表达水平明显降低($P<0.01$);与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 DHHC7 表达水平明显升高($P<0.01$)。与 Model 相比,SNXY 中的辅助性 T 细胞 17(Th17)的数量明显下降,调节性 T 细胞(Treg)的数量明显上升($P<0.01$);与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 Th17 数量明显增加,Treg 细胞数量明显下降($P<0.01$)。与 Model 相比,SNXY 中的 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21 和 IL-23 的含量均降低($P<0.01$);与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21 和 IL-23 的含量均升高($P<0.01$)。**结论** SNXY 能够抑制 HT 细胞的炎症反应,其机制可能与抑制 STAT3 棕榈酰化调控 Th17/Treg 平衡有关。

【关键词】 桥本甲状腺炎;四逆消癭方;信号转导和转录激活因子 3;辅助性 T 细胞 17/调节性 T 细胞;中药研究

Sini Xiaoying Decoction ameliorates Hashimoto thyroiditis by modulating Th17/Treg balance via STAT3 palmitoylation inhibition

YU Yang¹, ZHANG Jinyan², WEI Haoyue¹, YANG Xu³, QI Xu¹, LIU Surong⁴

1. First Clinical Medical College, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250355, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Maternal and Child Health Care Hospital of Shandong Province, Jinan, Shandong 250000, China; 3. Department of Endocrinology, Jinan Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250012, China; 4. Department of Endocrinology, Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan, Shandong 250014, China

[基金项目] 钱秋海全国名老中医药专家传承工作室资助项目(国中医药人教函[2022]75 号)

[作者简介] 俞洋,男,硕士研究生,主要从事中医药防治内分泌及代谢相关疾病研究工作

[通信作者] 刘素荣,主任医师,硕士研究生导师;

E-mail:liusurong214@163.com

Abstract: Objective To observe the effect of serum containing Sini Xiaoying Decoction (SNXY) on Hashimoto thyroiditis (HT) cells and explore its potential mechanism. **Methods** ① SNXY drug-containing serum was prepared, and human thyroid normal cells (Nthy-ori 3-1 cells) were interfered with interferon- γ (IFN- γ) to establish HT cell model. Nthy-ori 3-1 cells were used as control group (Control), and HT cell models were divided into model group (Model) and SNXY drug-containing serum low, medium and high dose groups (SNXY-D, SNXY-Z, SNXY-G). SNXY-D, SNXY-Z and SNXY-G were given 10% corresponding drug-containing serums, and Control and Model groups were given 10% blank serum for 48 hours of intervention. Apoptosis in each group was detected by flow cytometry; relevant indicators were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the protein expression of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 (p-STAT3) were detected by Western blot, and the palmitoylation level of STAT3 was detected by acyl-biotin exchange, co-immunoprecipitation (Co-IP) combined with Western blot. ② A lentivirus vector overexpressing palmitoyltransferase DHHC7 was constructed, and Nthy-ori 3-1 cells co-cultured with CD4⁺T cells were used as the control group (Control); the HT cell models co-cultured with CD4⁺T cells were divided into model group (Model) and drug-containing serum group (SNXY). Model transfected with blank plasmid was used as idle group (OE-CN), and Model transfected with DHHC7 overexpressing plasmid as transfection group (OE-DHHC7). SNXY, OE-CN and OE-DHHC7 were given 10% drug-containing serum of the optimal dose group, and Control and Model were given 10% blank serum for 48 hours. **Results** ① Compared with Model, the apoptosis rates of SNXY-D, SNXY-Z and SNXY-G cells were all reduced ($P<0.01$); the contents of free triiodothyronine (FT3), free thyroxine (FT4), thyroid stimulating hormone (TSH), thyroid peroxidase antibody (TPO-Ab) and thyroglobulin antibody (Tg-Ab) in SNXY-D, SNXY-Z and SNXY-G all decreased ($P<0.05$, $P<0.01$); The contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin (IL)-6 in SNXY-D, SNXY-Z and SNXY-G were significantly reduced, while the contents of IL-10 and IL-12 were significantly increased, with statistical significance ($P<0.01$); expression level of p-STAT3 in SNXY-D, SNXY-Z and SNXY-G was significantly reduced ($P<0.05$, $P<0.01$); the palmitoylation level of SNXY-D, SNXY-Z and SNXY-G was significantly reduced ($P<0.05$, $P<0.01$). ② Compared with Model, DHHC7 expression level in SNXY was significantly reduced ($P<0.01$); compared with OE-CN, DHHC7 expression level in OE-DHHC7 was significantly increased ($P<0.01$). Compared with Model, the number of helper T cells 17 (Th17) in SNXY decreased significantly, and the number of regulatory T cells (Treg) increased significantly ($P<0.01$); compared with OE-CN, the number of Th17 in OE-DHHC7 increased significantly, while the number of Treg decreased significantly ($P<0.01$). Compared with Model, the contents of IL-17A, IL-17F, IL-6, IL-21 and IL-23 in SNXY were all decreased ($P<0.01$); compared with OE-CN, the contents of IL-17A, IL-17F, IL-6, IL-21 and IL-23 in OE-DHHC7 were all increased ($P<0.01$). **Conclusion** SNXY can inhibit the inflammatory response of HT cells, and its mechanism may be related to the inhibition of STAT3 palmitoylation to regulate Th17/Treg balance.

Keywords: Hashimoto thyroiditis; Sini Xiaoying Decoction; STAT3; Th17/Treg; Chinese materia medica research

桥本甲状腺炎 (Hashimoto thyroiditis, HT) 又称慢性自身免疫性甲状腺炎, 是通过甲状腺过氧化物酶抗体 (TPO-Ab) 介导, 以甲状腺 T 淋巴细胞浸润、滤泡破坏为特点的自身免疫性疾病^[1]。一项全球患病率和流行病学的回顾性研究^[2]显示, 成年人中 HT 的整体患病率为 7.5%, 其中女性为 17.5%, 男性为 6.0%。来自中国大陆 31 个省级地区的 78 470 名受试者的横断面研究^[3]报告了甲状腺抗体阳性的成人 HT 患病率约为 14.19%。HT 是导致甲状腺癌的危险因素之一^[4], 也是造成成人甲状腺功能减退症的主要原因^[1]。现代医学对于甲状腺功能减退症仍以甲状腺激素补充替代治疗为主, 然而长期接受左旋甲状腺素补充治疗的患者显示出认知功能和总体健康的持续损害^[5]。此外, 越来越多的研究发现, HT 中的炎症过程是甲状腺癌发生的潜在风险因素^[6], 且存在增加心血管、骨骼系统疾病等不良反应的风险^[3]。因此, 发掘有效的治疗药物阻止 HT 的进展迫在眉睫。

信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 作为 Janus 激酶 (JAK)/STAT 通路的核心分子, 是信号转导和转录激活因子家族的重要成员, 在免疫调节和细胞因子分泌中发挥关键作用。既往研究^[7-9]已明确其磷酸化激活机

制通过介导炎症反应参与多种疾病进程, 尤其在 HT 中, STAT3 的过度激活可能增加患者易感性并提高甲状腺自身抗体滴度水平^[10-11]。然而, STAT3 的棕榈酰化修饰在自身免疫疾病中的功能尚未明确。近年研究^[12]发现, STAT3 棕榈酰化可通过调控其膜定位及稳定性影响疾病进展, 具体而言, STAT3 第 108 位点的半胱氨酸残基可被棕榈酰转移酶 DHHC7 特异性修饰^[13-14], 该修饰促使 STAT3 向细胞膜迁移并与 JAK2 结合, 进而触发其磷酸化及下游基因表达。这一级联反应最终导致辅助性 T 细胞 17 (Th17) 异常分化及炎症因子释放, 形成炎症微环境。但此机制在 HT 中仍属空白领域。

越来越多研究^[15-17]证实中医药治疗 HT 具有一定的潜力。课题组根据 HT 中医病机的特点, 以“四逆散”为基础构建了“四逆消癭方” (Sini Xiaoying Decoction, SNXY)^[18]。临床研究^[19-21]表明, SNXY 能够降低甲状腺球蛋白抗体 (Tg-Ab) 和 TPO-Ab 水平, 改善 HT 患者临床症状, 延缓病情进展。本研究旨在从细胞水平探讨 SNXY 对 HT 细胞的保护效果及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 24 只, 体质量 190~210 g,

6~8 周龄,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006。动物使用合格证号:SYXK(鲁)2023-0031。所有大鼠均在山东中医药大学附属医院的 SPF 级动物饲养设施内进行饲养。饲养环境:温度 20~24℃,湿度 55%~65%,室内光照维持 12 h/12 h 的昼夜节律,同时大鼠自由进食和饮水。本研究的所有实验方案均已获得山东中医药大学附属医院伦理委员会的批准(伦理批准号:SDSZYYAWE20240709004)。

1.1.2 细胞 人甲状腺正常细胞(Nthy-ori 3-1 细胞,批号:CL-0817),购于武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.1.3 药物与试剂 SNXY 由柴胡 9 g、黄芪 30 g、白芍 15 g、当归 12 g、枳实 9 g、白术 15 g、夏枯草 15 g、白花蛇舌草 30 g、金银花 30 g、防风 9 g、甘草 3 g 组成。以上药物均山东中医药大学附属医院中药房。全方药物浸泡 1 h,加 10 倍量水,煎煮 1 h,过滤,药渣再加入 8 倍量水,煎煮 1 h,过滤。混合 2 次药液,浓缩为生药质量浓度为 1 g·mL⁻¹ 的 SNXY 药液,置于 4℃ 冰箱保存备用。

胎牛血清(批号:FSD500),苏州依科赛生物科技有限公司;增强型化学发光液(ECL,批号:P2100),苏州新赛美生物科技有限公司;STAT3 抗体、磷酸化 STAT3(p-STAT3)(Y705)抗体、锌指 DHHC 型棕榈酰转移酶 7(ZDHHC7)抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(批号分别为 ab109085、ab267373、ab138210、ab8245),英国 Abcam 公司;帕金蛋白 2(PALM2)抗体(批号:18889-1-AP),武汉三鹰生物技术有限公司;游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号:SPS-15996),上海赛培森生物科技有限公司;游离甲状腺素(FT4)ELISA 试剂盒(批号:WLS10742),北京沃莱士生物科技有限公司;促甲状腺激素(TSH)、甲状腺球蛋白抗体(Tg)、白细胞介素(IL)-12、IL-17A 的 ELISA 试剂盒(批号分别为 E-EL-H3636、E-EL-H6077、E-EL-H0150、E-EL-H5812),武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;TPO-Ab、IL-10、IL-17F、IL-21、IL-23 的 ELISA 试剂盒(批号分别为 ml025777、ml064299、ml027423、ml027406、ml058067),上海酶联生物科技有限公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6 的 ELISA 试剂盒以及膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素(AnnexinV-FITC)细胞凋亡检测试剂盒(批号分别为:PT518、PI325、062L),上海碧云天生物技术有限公司;细胞计数试剂盒(CCK-8)、免疫沉淀试剂盒(批号分别为 BA00208、P2179M),北京博奥森生物技术有限公司;CD4⁺T 细胞分离试剂盒(批号:130-096-533),德国 Miltenyi Biotec 公司。

1.1.4 主要仪器 超低温冰箱(型号:DW-86L828),青岛海尔生物医疗股份有限公司;光学显微镜(型号:

XSP-8CA),上海光学仪器一厂有限公司;二氧化碳(CO₂)细胞培养箱(型号:BPN-80CRH),上海博迅实业有限公司医疗设备厂;Western blot 系统(型号:Mini Trans-Blot® Cell),伯乐生命医学产品(上海)有限公司;化学发光成像系统(型号:JP-K6000),上海嘉鹏科技有限公司;酶标分析仪(型号:RT-6000),深圳雷杜生命科学股份有限公司;流式细胞仪(型号:Attune NxT),赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 前期方法

1.2.1 含药血清制备 24 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后,随机分为空白组与 SNXY 低、中、高剂量组,每组 6 只。根据人与大鼠体表面积换算法^[22]及文献研究^[23-24],将 SNXY 临床剂量换算成大鼠等效剂量,SNXY 中剂量组为等效剂量,SNXY 高、低剂量组分别为等效剂量的 2 倍、0.5 倍。即 SNXY 低、中、高剂量组灌胃剂量分别为 7.97、15.93、31.86 g·kg⁻¹·d⁻¹,按 10 mL·kg⁻¹ 的灌胃体积配制相应浓度药液,每日 1 次灌胃,空白组予等体积 0.9% 氯化钠溶液每日 1 次灌胃,连续灌服 7 d。采血前禁食 12 h,于末次灌胃 1 h 后,以体积分数为 3% 的异氟烷持续吸入麻醉,无菌条件下腹主动脉取血,4℃ 静置 4 h,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离血清,56℃ 恒温水浴灭活 30 min,0.22 μ m 微孔滤膜过滤除菌,-80℃ 保存备用。

1.2.2 外周血单个核细胞分离与 CD4⁺T 细胞分选 采用抗凝管收集血样,并利用等体积 0.9% 氯化钠溶液对血液进行稀释。将 8 mL 人淋巴细胞分离液加入 15 mL 离心管中,随后添加 6 mL 已稀释的血液,以 2 000 r·min⁻¹ 离心 25 min。离心后,吸取白膜层并转移至含有 15 mL 0.9% 氯化钠溶液的离心管内,再以 1 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,去除上清液。此过程重复 3 次,以便有效分离单个核细胞。

针对 CD4⁺T 细胞的分选,依据说明书,使用阴性细胞分选试剂盒执行磁珠分选技术,从单个核细胞中分离出 CD4⁺T 细胞。分离出的 CD4⁺T 细胞用藻红蛋白标记抗人 CD4 抗体、FITC 标记抗人 CD3 抗体进行染色。最后,通过流式细胞术检测 CD4⁺T 细胞的纯度。

1.2.3 细胞培养及 HT 细胞模型制备 Nthy-ori 3-1 细胞饲养于体积分数为 10% 的胎牛血清、1% 青链霉素的 RPMI-1640 培养基中,培养箱条件为 37℃、体积分数 5% 的 CO₂。CD4⁺T 细胞饲养体积分数为 10% 的胎牛血清、1% 青链霉素、400 U·mL⁻¹ 重组 IL-2 的 RPMI-1640 培养基中,培养箱条件为 37℃、体积分数为 5% 的 CO₂。Nthy-ori 3-1 细胞中加入 500 U·mL⁻¹ 的 γ 干扰素(IFN- γ)处理 48 h,制备 HT 细胞模型^[25]。

1.3 SNXY 含药血清干预 HT 细胞模型

1.3.1 细胞分组与给药 将 Nthy-ori 3-1 细胞设为对照

组(Control), HT 细胞模型分为模型组(Model)和 SNXY 含药血清低、中、高剂量组(SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G)。SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 给予对应分组体积分数为 10% 的含药血清, Control、Model 给予体积分数为 10% 的空白血清, 干预 48 h。

1.3.2 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况 取对数期生长的细胞以 1×10^6 个/孔接种于 6 孔板, 分组干预后用适量的培养基将细胞制成悬液转移到离心管中, $1\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清。加入 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)重悬细胞后再以 $1\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 弃上清。重复本步骤 1 次, 加入 $1 \times$ Annexin V 结合缓冲液, 制成终浓度为 1×10^6 个/mL 的细胞悬液。取 100 μL 细胞悬液, 依次加入 5 μL Annexin V/FITC 结合物和碘化丙啶(PI)溶液。在室温下避光孵育 15 min, 加入 400 μL $1 \times$ Annexin V 结合缓冲液, 1 h 内上机检测。

1.3.3 ELISA 检测相关指标含量 取对数期生长的细胞, 按照 1×10^6 个/孔接种于 6 孔板内, 分组干预后收集细胞培养液, 离心, 收集上清。按照 ELISA 试剂盒说明书进行操作, 检测甲状腺功能相关指标 FT3、FT4、TSH、TPO-Ab、Tg-Ab 的含量以及炎症相关指标 TNF- α 、IL-10、IL-6、IL-12 的含量。

1.3.4 Western blot 检测 STAT3、p-STAT3 蛋白表达量 收集各组处理后的细胞, 经预冷 PBS 洗涤后加入含苯甲基磺酰氟(PMSF)的放射免疫沉淀测定缓冲液(RIPA)裂解液提取总蛋白, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 离心取上清; 二辛可酸(BCA)法测定蛋白浓度并调整至相同浓度, 沸水浴制备样品; 经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)(80 V/120 V 分阶段)后转膜至甲醇活化的聚偏二氟乙烯(PVDF)膜, 脱脂牛奶(50 g/L)封闭 30 min, 依次孵育一抗($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 12 h), 二抗(山羊抗兔, 室温 2 h), 含吐温 20 的 Tris 缓冲液(TBST)洗膜后 ECL 显影, ImageJ 软件分析目的蛋白与内参灰度比值。

1.3.5 酰基-生物素交换法、免疫共沉淀(Co-IP)结合 Western blot 检测 STAT3 的棕榈酰化水平 细胞裂解后经含 N-乙基马来酰亚胺(NEM)的 RIPA 处理, 通过多次丙酮沉淀及 4-磺基苯甲酰基(4SB)溶解去除游离巯基, 羟胺(HAM)裂解酰基键后以生物素-二硫吡啶(Biotin-HPDP)标记暴露巯基, 再经丙酮沉淀纯化标记蛋白; 使用 STAT3 抗体与 Protein A/G 磁珠进行 Co-IP 富集目的蛋白, 经洗涤和 SDS-PAGE 上样缓冲液煮沸洗脱; Western blot 采用 12% SDS-PAGE 分离, 转膜至 PVDF 后, 以链霉亲和素-辣根过氧化物酶偶联物(Streptavidin-HRP)检测生物素标记信号, ECL 显影并通过 ImageJ 软件分析目的蛋白与内参灰度比值, 定量棕榈酰化水平。

1.4 SNXY 含药血清干预转染加 CD4⁺T 细胞共培养 HT

细胞模型

1.4.1 细胞分组与给药 构建过表达 DHHC 型棕榈酰转移酶 7(DHHC7)慢病毒载体, 选择慢病毒嘌呤霉素载体(pLV-Puro)。由 NCBI 获取 DHHC7 基因序列 NM_001145548.2。将 Nthy-ori 3-1 细胞与 CD4⁺T 细胞共培养设为对照组(Control); 将 HT 细胞模型与 CD4⁺T 细胞共培养后分为模型组(Model)和含药血清组(SNXY), Model 转染空白质粒后设为空转组(OE-CN), Model 转染 DHHC7 过表达质粒后设为转染组(OE-DHHC7)。SNXY、OE-CN、OE-DHHC7 各组给予“1.3”项实验中效果最佳剂量组体积分数为 10% 的含药血清干预, Control、Model 给予体积分数为 10% 的空白血清, 干预 48 h。

1.4.2 Western blot 检测 DHHC7 转染水平 干预结束后搜集细胞, 参照“1.3.4”项下检测 DHHC7 蛋白表达量(稀释比为 1:1 000), 确定 DHHC7 过表达质粒转染效果。

1.4.3 流式细胞术检测各组 Th17 细胞和调节性 T 细胞(Treg)细胞分化数量 取对数期生长的细胞, 按照 1×10^6 个/孔接种于 6 孔板内, 分组干预后收集细胞, 制成细胞悬液, 取 50 μL 细胞悬液, 加入 10 μL 带有不同荧光标记物的 IL-17A、叉头框蛋白 p3(Foxp3)、CD25 抗体, 常温避光孵育 60 min。PBS 洗涤, 上机检测。

1.4.4 ELISA 检测相关指标含量 方法参照“1.3.3”, 检测转染后各组炎症相关指标 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21 和 IL-23 的含量。

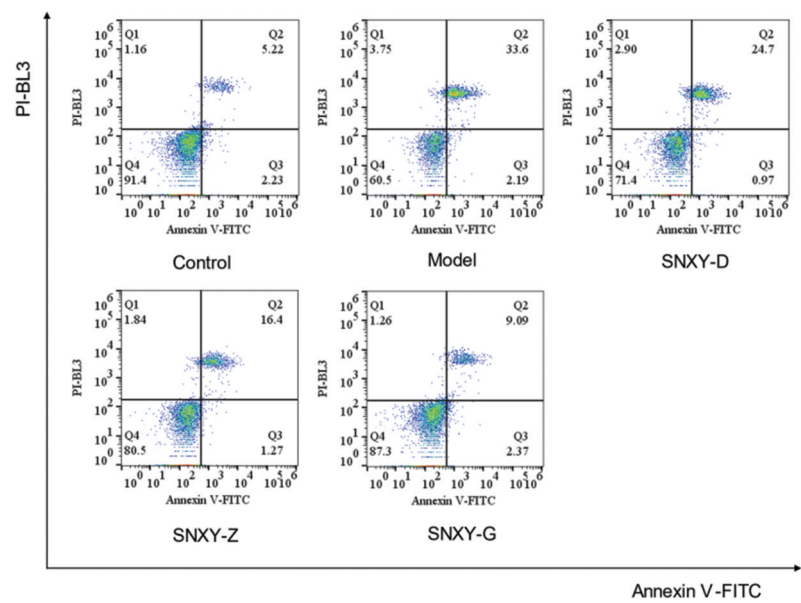
1.5 统计学方法 实验数据均采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 使用 ImageJ 软件等处理实验图片, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较满足正态性检验、方差齐性, 采用单因素方差分析, 组间两两比较运用 Tukey 检验, 方差不齐时采用 Welch's ANOVA 方法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SNXY 含药血清对 HT 细胞模型的影响

2.1.1 SNXY 含药血清对细胞凋亡的影响 流式细胞术结果显示: 与 Control 比较, Model 细胞凋亡率明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 提示 HT 细胞模型建模成功, 并诱导了凋亡过程; 与 Model 比较, SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 细胞凋亡率均降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 且随着血清含药浓度的升高, 细胞凋亡率逐渐降低, 说明 SNXY 的抗细胞凋亡作用呈现出剂量依赖性关系。见图 1, 表 1。

2.1.2 SNXY 含药血清对甲状腺功能相关指标的影响 ELISA 结果显示: 与 Control 比较, Model 中的 FT3、FT4、TSH、TPO-Ab 和 Tg-Ab 的含量均明显升高, 差异有



注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,PI-BL3 为流式细胞仪的 BL3 通道,Annexin V-FITC 为异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记的膜联蛋白 V。

图 1 各组流式细胞术结果

表 1 各组细胞凋亡率比较 (n=3, $\bar{x}\pm s$, %)

组别	凋亡率
Control	7.85±0.36
Model	35.91±0.34**
SNXY-D	25.29±1.83#
SNXY-Z	17.35±0.49##
SNXY-G	10.92±0.59##

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

统计学意义 ($P<0.01$),提示 Model 存在甲状腺自身免疫性损伤;与 Model 比较,SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 中的 FT3、FT4、TSH、TPO-Ab 和 Tg-Ab 的含量均降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$),且随着血清含药浓度的升高,上述结果逐渐降低,呈浓度依赖性下降,提示 SNXY 可能通过抑制甲状腺自身免疫反应,减轻甲状腺组织破坏。见表 2。

2.1.3 SNXY 含药血清对炎症相关指标的影响 ELISA

结果显示:与 Control 比较,Model 中的 TNF- α 、IL-6 的含量明显升高,IL-10 和 IL-12 的含量明显降低,差异均有统计学意义 ($P<0.01$),表明 Model 呈现典型的促炎/抗炎失衡状态;与 Model 比较,SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 中的 TNF- α 、IL-6 的含量均明显降低,差异均有统计学意义 ($P<0.01$),且随着血清含药浓度的升高,上述结果逐渐降低,IL-10、IL-12 的含量均明显升高,差异均有统计学意义 ($P<0.01$),且随着血清含药浓度的升高,上述结果逐渐升高,表明 SNXY 不仅能有效抑制促炎因子释放,还可通过上调抗炎因子和免疫调节因子调节炎症微环境,且该作用具有明确的剂量效应关系。见表 3。

2.1.4 SNXY 含药血清对 STAT3、p-STAT3 蛋白表达量的影响 Western blot 结果显示,与 Control 比较,Model 中的 p-STAT3 表达水平明显升高,差异有统计学意义 ($P<0.01$),提示 Model 可能通过激活 STAT3 信号通路参与病理过程;与 Model 比较,SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 中 p-STAT3 表达水平明显降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$),且随着血清含药浓度的升高,上述

表 2 各组甲状腺功能相关指标水平比较 (n=3, $\bar{x}\pm s$)

组别	FT3/(ng·L ⁻¹)	FT4/(ng·L ⁻¹)	TSH/(mIU·L ⁻¹)	TPO-Ab/(IU·mL ⁻¹)	Tg-Ab/(IU·mL ⁻¹)
Control	400.91±10.04	111.41±2.36	8.77±0.21	37.34±0.62	27.58±1.34
Model	705.74±15.38**	170.32±2.43**	15.75±0.18**	57.55±1.27**	44.94±1.07**
SNXY-D	619.82±17.72##	160.54±1.75##	15.24±0.15##	53.53±1.51##	42.75±0.62#
SNXY-Z	575.04±11.36##	152.07±2.67##	14.37±0.25##	49.68±0.81##	39.87±0.64##
SNXY-G	506.12±7.515##	143.13±1.81##	13.78±0.23##	46.87±1.34##	37.23±1.31##

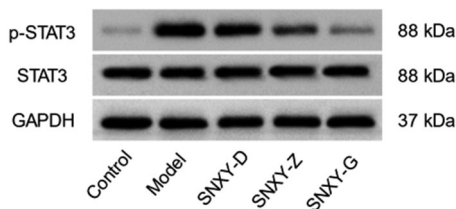
注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,FT3 为游离三碘甲状腺原氨酸,FT4 为游离甲状腺素,TSH 为促甲状腺激素,TPO-Ab 为甲状腺过氧化物酶抗体,Tg-Ab 为甲状腺球蛋白抗体。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$ 。

表 3 各组炎症相关指标水平比较($n=3, \bar{x} \pm s, \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	TNF- α	IL-6	IL-10	IL-12
Control	492.43 $\pm$ 15.16	49.65 $\pm$ 2.24	33.29 $\pm$ 0.57	909.41 $\pm$ 22.73
Model	836.45 $\pm$ 17.26**	89.63 $\pm$ 1.31**	24.43 $\pm$ 0.58**	622.25 $\pm$ 11.83**
SNXY-D	794.94 $\pm$ 11.49##	79.65 $\pm$ 1.67##	26.29 $\pm$ 0.61##	682.48 $\pm$ 12.90##
SNXY-Z	763.85 $\pm$ 19.38##	62.15 $\pm$ 2.24##	29.35 $\pm$ 0.68##	768.93 $\pm$ 31.08##
SNXY-G	686.27 $\pm$ 19.24##	49.82 $\pm$ 2.18##	30.92 $\pm$ 0.43##	855.52 $\pm$ 31.12##

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ,IL 为白细胞介素。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,## $P<0.01$ 。

结果逐渐降低,提示 SNXY 能够有效抑制 STAT3 的磷酸化,从而可能减弱其信号通路的活性,且抑制作用存在剂量依赖性。见图 2,表 4。



注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,p-STAT3 为磷酸化信号转导及转录激活因子 3,STAT3 为信号转导和转录激活因子 3,GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

图 2 各组细胞 Western blot 条带图

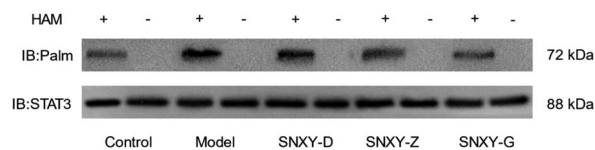
表 4 各组细胞 p-STAT3 水平比较($n=3, \bar{x} \pm s, \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	p-STAT3/STAT3
Control	0.12 $\pm$ 0.02
Model	1.14 $\pm$ 0.31**
SNXY-D	0.89 $\pm$ 0.24 [#]
SNXY-Z	0.46 $\pm$ 0.08##
SNXY-G	0.26 $\pm$ 0.04##

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,p-STAT3 为磷酸化信号转导及转录激活因子 3,STAT3 为信号转导和转录激活因子 3。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,[#] $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

2.1.5 SNXY 含药血清对 STAT3 棕榈酰化水平的影响 与 Control 比较,Model 棕榈酰化水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),表明疾病模型诱导了蛋白质棕榈酰化修饰的异常激活;与 Model 比较,SNXY-D、SNXY-Z、SNXY-G 棕榈酰化水平明显降低,差异有统计学意义($P<0.05, P<0.01$),且随着血清含药浓度的升高,上述结果逐渐降低,提示药物浓度与棕榈酰化水平之间存在剂量依赖性关系,表明 SNXY 可能通过抑制棕榈酰化修饰来发挥其药理作用。见图 3,表 5。

2.2 SNXY 含药血清对转染加 CD4⁺T 细胞共培养 HT 细胞模型的影响



注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,HAM 为羟胺,STAT3 为信号转导和转录激活因子 3,IB: Palm 为免疫印迹法检测棕榈酰化,IB: STAT3 为免疫印迹法检测 STAT3。

图 3 各组细胞 STAT3 棕榈酰化水平 Western blot 条带图

表 5 各组细胞 STAT3 棕榈酰化水平比较($n=3, \bar{x} \pm s, \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

组别	棕榈酰化水平
Control	0.42 $\pm$ 0.04
Model	1.38 $\pm$ 0.67**
SNXY-D	1.03 $\pm$ 0.55 [#]
SNXY-Z	0.83 $\pm$ 0.24##
SNXY-G	0.67 $\pm$ 0.12##

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY-D 为四逆消癆方含药血清低剂量组,SNXY-Z 为四逆消癆方含药血清中剂量组,SNXY-G 为四逆消癆方含药血清高剂量组,STAT3 为信号转导和转录激活因子 3。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,[#] $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

2.2.1 SNXY 含药血清对 DHHC7 转染水平的影响 根据“2.1”实验结果,明确了 SNXY-G 为最佳含药剂量组。与 Control 比较,Model 中的 DHHC7 表达水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),提示 HT 状态下 DHHC7 可能参与甲状腺自身免疫反应的激活;与 Model 比较,SNXY 中的 DHHC7 表达水平明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$),表明 SNXY 可能通过抑制 DHHC7 表达发挥治疗作用;与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 DHHC7 表达水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),提示 OE-DHHC7 成功构建了 DHHC7 的过表达模型。见图 4,表 6。



注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY 为含药血清组,OE-CN 为空转组,OE-DHHC7 为转染组,DHHC7 为 DHHC 型棕榈酰转移酶 7,β-Tubulin 为 β-微管蛋白。

图 4 各组细胞 Western blot 条带图

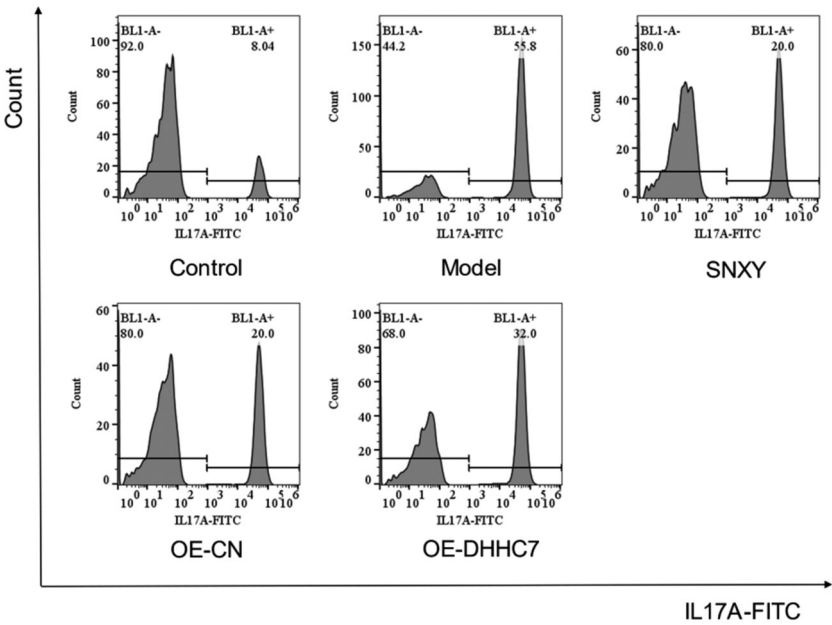
2.2.2 SNXY 含药血清对 Th17 细胞和 Treg 细胞分化的影响 流式细胞术结果显示:与 Control 比较,Model 中的 Th17 细胞数量明显升高,Treg 细胞数量明显下降,差异有统计学意义($P<0.01$),表明 Model 中的 Th17 细胞

表 6 各组细胞 DHHC7 水平比较 (n=3, $\bar{x}\pm s$)

组别	DHHC7/ β -Tubulin
Control	0.18 $\pm$ 0.03
Model	1.09 $\pm$ 0.37**
SNXY	0.43 $\pm$ 0.08##
OE-CN	0.41 $\pm$ 0.11
OE-DHHC7	0.75 $\pm$ 0.18 $\Delta\Delta$

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY 为含药血清组,OE-CN 为空转组,OE-DHHC7 为转染组,DHHC7/ β -Tubulin 为 DHHC 型棕榈酰转移酶 7/ β -微管蛋白。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,## $P<0.01$;与 OE-CN 比较, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

的过度活化和 Treg 细胞的抑制,可能反映了疾病状态下免疫失衡的特征;与 Model 比较,SNXY 中的 Th17 细胞数量明显下降,Treg 细胞数量明显上升,差异有统计学意义 ($P<0.01$),提示 SNXY 可能通过调节 Th17 和 Treg 的比例,恢复了免疫平衡,从而对疾病模型细胞引起的免疫失衡具有一定的干预作用;与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 Th17 细胞数量明显升高,Treg 细胞数量明显下降,差异有统计学意义 ($P<0.01$),进一步验证了 DHHC7 过表达导致了 Th17 细胞的活化和 Treg 细胞的抑制,从而加重了免疫失衡。见图 5、图 6,表 7。



注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY 为含药血清组,OE-CN 为空转组,OE-DHHC7 为转染组,Count 为辅助性 T 细胞 17(Th17)细胞数量,IL17A-FITC 为异硫氰酸荧光素标记的白细胞介素-17A 抗体。

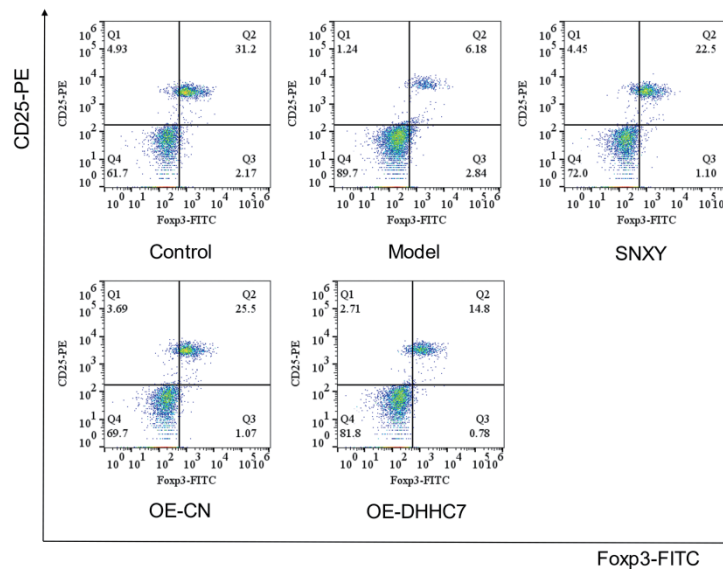
图 5 各组 Th17 细胞数量流式图

2.2.3 SNXY 含药血清对转染后炎症相关指标的影响 ELISA 结果显示:与 Control 比较,Model 中的 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21 和 IL-23 的含量均升高,差异有统计学意义 ($P<0.01$),提示疾病模型细胞可能通过促进促炎性细胞因子的分泌,进而加剧炎症反应;与 Model 比较,SNXY 中的 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21 和 IL-23 的含量均降低,差异有统计学意义 ($P<0.01$),表明 SNXY 含药血清可以抑制促炎性细胞因子的分泌,从而发挥抗炎作用;与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 IL-17A、IL-17F、IL-6、IL-21 和 IL-23 的含量均升高,差异有统计学意义 ($P<0.01$),表明 DHHC7 在炎症反应的调控中发挥重要作用,其过表达促进促炎性细胞因子的分泌,进一步加剧炎症反应。见表 8。

3 讨论

HT 发病机制尚未完全阐明,可能与遗传、免疫、感

染及环境等因素相关^[26-27]。既往研究^[28]已证实 HT 的发病与 Th17/Treg 失衡密切相关,但调控机制多聚焦于细胞因子信号通路,如 IL-6/STAT3、转化生长因子- β (TGF- β)、非编码 RNA (如 miR-326) 或其他代谢途径 (如 mTOR 信号)^[29-35]。武文平等^[36]研究发现,参芪扶正汤能显著下调 HT 患者 miR-17 表达水平,同时上调长链非编码核糖核酸母系表达基因 3 (lncRNA-MEG3) 表达,从而实现 Th17/Treg 细胞亚群的平衡。在动物实验层面,刘守尧等^[37]采用补中益气颗粒干预自身免疫性甲状腺炎 (EAT) 大鼠,发现该方剂通过激活 TGF- β 信号通路,有效抑制 Th17 细胞异常分化并促进 Treg 细胞生成,从而改善甲状腺组织病理损伤。一项“夏枯草-猫爪草”药对的生信分析^[38]显示,“夏枯草-猫爪草”药对的核心活性成分可通过调控核因子- κ B 抑制蛋白 α (NFKBIA) 等关键靶点,干预 Th17 细胞分化过程,进而



注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY 为含药血清组,OE-CN 为空转组,OE-DHHC7 为转染组;CD25-PE 为藻红蛋白标记的 CD25 抗体,Foxp3-FITC 为异硫氰酸荧光素标记的叉头框蛋白 p3 抗体。

图6 各组调节性T细胞(Treg)数量流式图

表7 各组 Th17、Treg 数量结果 (n=3, $\bar{x} \pm s$, %)

组别	Th17	Treg
Control	8.21±0.25	33.06±0.27
Model	56.23±0.51**	8.54±0.51**
SNXY	20.23±0.32##	24.46±0.74##
OE-CN	20.27±0.37	26.24±0.99
OE-DHHC7	31.17±1.04△△	15.79±0.22△△

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY 为含药血清组,OE-CN 为空转组,OE-DHHC7 为转染组,Th17 为辅助性 T 细胞 17,Treg 为调节性 T 细胞。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,## $P<0.01$;与 OE-CN 比较,△△ $P<0.01$ 。

恢复 Th17/Treg 免疫稳态。

近年来研究^[39-40]表明,S-棕榈酰化在免疫调节中发挥重要作用。S-棕榈酰化通过调控蛋白质定位、稳定性及相互作用等机制影响细胞功能^[41-42]。STAT3 可通过 DHHC7 介导的棕榈酰化定位于质膜并促进磷酸化,随后酰基蛋白硫酯酶 2(APT2)介导去棕榈酰化使其入核激活。这种动态修饰循环驱动 STAT3 形成二聚体,最终促进 Th17 细胞分化^[13]。Th17 细胞参与多种自身免疫性疾病,包括炎症性肠病(IBD)、HT^[43-45]。研究^[46]

表明,STAT3 信号转导可直接影响 Th17/Treg 细胞平衡。虽然类似机制在 IBD 中已有报道^[13],但在 HT 领域尚未见相关研究,受这一机制的启发,本研究探讨了 SNXY 对 HT 细胞模型中 STAT3 棕榈酰化水平的影响,填补了 HT 发病机制中蛋白质翻译后修饰调控的空白。

本研究结果显示,SNXY 含药血清能呈剂量依赖性地降低 HT 细胞凋亡率、甲状腺功能异常、炎症因子、STAT3 磷酸化及棕榈酰化水平;过表达 DHHC7 后,与 Model 比较,SNXY 中的 DHHC7 表达水平、炎症因子、Th17 细胞数量下降,Treg 细胞数量上升;与 OE-CN 比较,OE-DHHC7 中的 DHHC7 表达水平、炎症因子、Th17 细胞数量明显升高,Treg 细胞数量下降。研究结果提示,STAT3 棕榈酰化修饰的异常激活可能是疾病模型中免疫失衡的关键机制之一。在疾病状态下,STAT3 棕榈酰化水平的显著升高可能通过促进其磷酸化活化状态,进而增强下游促炎信号通路,导致 Th17 细胞的分化异常增加及 Treg 细胞的免疫抑制功能受损^[47-48]。棕榈酰化修饰可能通过调控 STAT3 的亚细胞定位或蛋白稳定性,影响其与信号通路的相互作用,从而放大 Th17 驱

表8 各组炎症相关指标水平比较 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-17A/(ng·L ⁻¹)	IL-17F/(μg·L ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	IL-21/(μg·L ⁻¹)	IL-23/(ng·L ⁻¹)
Control	235.41±13.51	45.05±1.62	29.92±2.01	55.88±1.95	120.26±4.79
Model	395.82±5.22**	169.74±3.97**	90.31±1.93**	156.98±3.24**	272.25±6.53**
SNXY	325.52±14.52##	108.87±3.32##	65.23±1.79##	108.64±2.21##	226.27±5.34##
OE-CN	316.34±10.02	110.76±2.49	66.66±1.84	110.55±2.28	227.65±5.72
OE-DHHC7	371.13±11.14△△	148.18±3.06△△	78.61±1.51△△	137.27±3.43△△	258.33±5.44△△

注:Control 为对照组,Model 为模型组,SNXY 为含药血清组,OE-CN 为空转组,OE-DHHC7 为转染组,IL-17A 为白细胞介素-17A,IL-17F 白细胞介素-17F,IL 为白细胞介素。与 Control 比较,** $P<0.01$;与 Model 比较,## $P<0.01$;与 OE-CN 比较,△△ $P<0.01$ 。

动的炎症反应并抑制 Treg 介导的免疫耐受^[13]。SNXY 干预后,随着棕榈酰化水平的剂量依赖性降低,STAT3 活性可能受到抑制,进而逆转 Th17/Treg 细胞比例失衡,这一效应在 DHHC7 过表达导致的 Th17/Treg 失衡加重现象中得到反向验证。

在中医学理论中,HT 归属“瘰病”范畴,中医治疗强调以“扶正消瘰”为原则辨证施治^[49-50]。SNXY 针对“瘰病”的病机,以经方“四逆散”为基础,合方“玉屏风散”,增加清热散结之品而成^[19]。方中柴胡、枳实、白芍、甘草疏肝解郁,调和肝脾;黄芪、白术、当归、防风补益气血,扶正固表;夏枯草、金银花、白花蛇舌草清热解毒、消肿散结,共同发挥扶正固本、消瘰散结的功效。

综上所述,SNXY 可能通过抑制 STAT3 棕榈酰化调控 Th17/Treg 平衡,改善 HT 细胞生存率。本研究为 SNXY 治疗 HT 提供了实验支持。未来可结合临床样本验证 STAT3 棕榈酰化水平与 HT 活动的相关性,并利用分子对接筛选 SNXY 方中直接干预棕榈酰化酶的关键成分,进一步提升研究的转化价值。

参考文献:

- [1] RALLI M, ANGELETTI D, FIORE M, et al. Hashimoto's thyroiditis: An update on pathogenic mechanisms, diagnostic protocols, therapeutic strategies, and potential malignant transformation[J]. *Autoimmun Rev*, 2020, 19(10): 102649.
- [2] HU X, CHEN Y, SHEN Y, et al. Global prevalence and epidemiological trends of Hashimoto's thyroiditis in adults: A systematic review and meta-analysis[J]. *Front Public Health*, 2022, 10: 1020709.
- [3] 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*, 2020, 30(4): 568-579.
- [4] XU J, DING K, MU L, et al. Hashimoto's thyroiditis: A "double-edged sword" in thyroid carcinoma[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 801925.
- [5] DJUROVIC M, PEREIRA A M, SMIT J W A, et al. Cognitive functioning and quality of life in patients with Hashimoto thyroiditis on long-term levothyroxine replacement[J]. *Endocrine*, 2018, 62(1): 136-143.
- [6] FELDT-RASMUSSEN U. Hashimoto's thyroiditis as a risk factor for thyroid cancer[J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2020, 27(5): 364-371.
- [7] ZHENG L, DOU X, SONG H, et al. Bioinformatics analysis of key genes and pathways in Hashimoto thyroiditis tissues[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(7): BSR20200759.
- [8] 贾庆玲, 易志荣, 蒋凯林, 等. 莪术颗粒调控 JAK2/STAT3 通路治疗慢性萎缩性胃炎的机制[J]. *上海中医药杂志*, 2025, 59(1): 72-79.
- [9] 童雨婷, 刘新娟, 杨光, 等. 金松双黄酮抑制 JAK2/STAT3 通路对脂多糖诱导的 BV2 小胶质细胞炎症反应的影响[J]. *上海中医药杂志*, 2024, 58(5): 73-77.
- [10] KOTKOWSKA A, SEWERYNEK E, DOMAŃSKA D, et al. Single nucleotide polymorphisms in the STAT3 gene influence AITD susceptibility, thyroid autoantibody levels, and IL6 and IL17 secretion[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2015, 20(1): 88-101.
- [11] LI H, MIN J, MAO X, et al. Edaravone ameliorates experimental autoimmune thyroiditis in rats through HO-1-dependent STAT3/PI3K/Akt pathway[J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(7): 2037-2046.
- [12] JIANG Y, XU Y, ZHU C, et al. STAT3 palmitoylation initiates a positive feedback loop that promotes the malignancy of hepatocellular carcinoma cells in mice[J]. *Sci Signal*, 2023, 16(814): eadd2282.
- [13] ZHANG M, ZHOU L, XU Y, et al. A STAT3 palmitoylation cycle promotes T_H17 differentiation and colitis[J]. *Nature*, 2020, 586(7829): 434-439.
- [14] LIN H. Protein cysteine palmitoylation in immunity and inflammation[J]. *FEBS J*, 2021, 288(24): 7043-7059.
- [15] LUO J, ZHOU L, SUN A, et al. Herbal medicine for Hashimoto's thyroiditis: A systematic review and network meta-analysis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 323: 117663.
- [16] LUO J, ZHOU L, SUN A, et al. Clinical comparative efficacy and therapeutic strategies for the Hashimoto's thyroiditis: A systematic review and network meta-analysis[J]. *Heliyon*, 2024, 10(16): e35114.
- [17] ZHOU L, LUO J L, SUN A, et al. Clinical efficacy and molecular mechanism of Chinese medicine in the treatment of autoimmune thyroiditis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 323: 117689.
- [18] 朱例鲜, 刘素荣, 王德双. 桥本 1 号方治疗桥本甲状腺炎临床观察[J]. *实用中医药杂志*, 2015, 31(3): 187-188.
- [19] 方媛, 刘素荣. 桥本 1 号方对桥本甲状腺炎自身抗体及补体 C3、C4 的影响研究[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(96): 156-157.
- [20] 郭超华. 桥本 1 号方对桥本甲状腺炎补体水平及 IL-8 的影响研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [21] 谭超. 桥本 1 号方对桥本氏甲状腺炎 T 细胞亚群和 IL-10 的影响研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2019.
- [22] 黄继汉, 陈志扬, 郑青山, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [23] 唐俊玉, 黄仁, 商燕, 等. 复方葶苈子汤干预 LPS 诱导的肺微血管内皮细胞 TLR2/4-NLRP12-PANoptosis 轴的实验研究[J]. *中国中医急症*, 2025, 34(1): 23-27.
- [24] 张虎, 第五永长, 赵恩龙, 等. 洗心汤对快速老化模型小鼠 Th17/Treg 细胞免疫平衡及相关转录因子表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(5): 1353-1360.
- [25] 吴菲, 许铨铨, 郑婷婷, 等. IFN- γ 通过激活 STAT3 促进甲状腺上皮细胞分泌 CXCL10 趋化因子配体 10(CXCL10) [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(6): 811-814.
- [26] RAHIMOVA R R. Autoimmune thyroiditis (review of literature) [J]. *Klin Lab Diagn*, 2022, 67(5): 286-291.
- [27] WEETMAN A P. An update on the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis[J]. *J Endocrinol Invest*, 2021, 44(5): 883-890.
- [28] 李奕, 汤子媚, 王容, 等. 桥本甲状腺炎: 免疫学发病机制的进展[J/OL]. *中国免疫学杂志*, 2025 [2025-03-04]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/22.1126.R.20250114.1433.010.html>.
- [29] PEREZ L G, KEMPSKI J, MCGEE H M, et al. TGF- β signaling in Th17 cells promotes IL-22 production and colitis-associated colon cancer[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2608.

- [30] UENO A, JEFFERY L, KOBAYASHI T, et al. Th17 plasticity and its relevance to inflammatory bowel disease[J]. J Autoimmun, 2018, 87: 38-49.
- [31] TAHERI M, EGHTEADARIAN R, DINGER M E, et al. Dysregulation of non-coding RNAs in autoimmune thyroid disease [J]. Exp Mol Pathol, 2020, 117: 104527.
- [32] ZHAO N, ZOU H, QIN J, et al. MicroRNA-326 contributes to autoimmune thyroiditis by targeting the Ets-1 protein[J]. Endocrine, 2018, 59(1): 120-129.
- [33] ZHAO L, WU Q, WANG X, et al. Reversal of abnormal CD4⁺T cell metabolism alleviates thyroiditis by deactivating the mTOR/HIF1 α /Glycolysis pathway [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2021, 12: 659738.
- [34] DUAN J, DENG T, KANG J, et al. DINP aggravates autoimmune thyroid disease through activation of the Akt/mTOR pathway and suppression of autophagy in Wistar rats [J]. Environ Pollut, 2019, 245: 316-324.
- [35] DUAN J, KANG J, DENG T, et al. Exposure to DBP and high iodine aggravates autoimmune thyroid disease through increasing the levels of IL-17 and thyroid-binding globulin in Wistar rats [J]. Toxicol Sci, 2018, 163(1): 196-205.
- [36] 武文平, 张薇, 王剑, 等. 参芪扶正汤治疗桥本氏甲状腺炎合并甲状腺功能减退临床疗效及相关机制研究[J]. 天津中医药, 2024, 41(7): 835-839.
- [37] 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.
- [38] 李鸣, 付黎韵, 闫凯, 等. 基于网络药理学及分子对接技术研究夏枯草-猫爪草药对治疗桥本氏甲状腺炎的药效物质基础及作用机制[J]. 甘肃中医药大学学报, 2024, 41(2): 55-61.
- [39] CHENG W X, REN Y, LU M M, et al. Palmitoylation in Crohn's disease: Current status and future directions[J]. World J Gastroenterol, 2021, 27(48): 8201-8215.
- [40] ZHANG Y, QIN Z, SUN W, et al. Function of protein S-Palmitoylation in immunity and immune-related diseases [J]. Front Immunol, 2021, 12(2): 661202.
- [41] DAS T, YOUNT J S, HANG H C. Protein S-palmitoylation in immunity[J]. Open Biol, 2021, 11(3): 200411.
- [42] JIN J, ZHI X, WANG X, et al. Protein palmitoylation and its pathophysiological relevance [J]. J Cell Physiol, 2021, 236(5): 3220-3233.
- [43] ZHAO J, LU Q, LIU Y, et al. Th17 Cells in inflammatory bowel disease: cytokines, plasticity, and therapies [J]. J Immunol Res, 2021, 2021: 8816041.
- [44] CHEN L, RUAN G, CHENG Y, et al. The role of Th17 cells in inflammatory bowel disease and the research progress [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1055914.
- [45] WANG Y, FANG S, ZHOU H. Pathogenic role of Th17 cells in autoimmune thyroid disease and their underlying mechanisms [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2023, 37(2): 101743.
- [46] JI L S, SUN X H, ZHANG X, et al. Mechanism of follicular helper T cell differentiation regulated by transcription factors [J]. J Immunol Res, 2020, 2020: 1826587.
- [47] 孙丽婷, 张为国, 童玥. 靶向蛋白 S-棕榈酰化修饰在 T 细胞免疫疗法中的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(1): 45-52.
- [48] JOHNSON D E, O'KEEFE R A, GRANDIS J R. Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018, 15(4): 234-248.
- [49] 李心爱, 李哲, 商建伟, 等. 中西医结合治疗桥本甲状腺炎疗效的 meta 分析[J]. 中国医药科学, 2022, 12(6): 27-31.
- [50] 北京中西医结合学会甲状腺病专业委员会. 桥本甲状腺炎中西医结合诊疗北京专家共识(2021, 北京)[J]. 中国医药导报, 2022, 19(34): 4-7.

编辑:季春来

收稿日期:2025-01-13