

伊曲康唑对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠骨髓源性抑制细胞的影响及意义

黎媛 李伟文 蓝秀 吕祝庆

【摘要】 目的 探讨伊曲康唑对慢性阻塞性肺疾病(COPD)模型大鼠骨髓源性抑制细胞(MDSC)的影响及意义。方法 按照随机数字表法将 40 只大鼠分为对照组、模型组、低剂量组和高剂量组,每组 10 只。对照组大鼠给予常规喂养;后 3 组大鼠按被动香烟烟雾吸入法构建 COPD 模型,低剂量组和高剂量组大鼠于被动吸烟 12 周后,分别口服 10mg/kg 和 50mg/kg 伊曲康唑,1 次/d,共 4 周。分别检测并计算各组大鼠的第 0.3s 用力呼气量与用力肺活量的比值(FEV_{0.3}/FVC)、肺顺应性和气道阻力及气道病理学评分;采用流式细胞术和免疫荧光技术分析外周血 MDSC 比例和肺组织中 MDSC 计数,Western blot 法和 RT-PCR 法测定肺组织中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、转化生长因子-β(TGF-β)和精氨酸酶 1(ARG1)蛋白及 mRNA 表达。结果 与对照组相比,模型组外周血 MDSC 比例、肺组织 MDSC 细胞数、iNOS、TGF-β、ARG1 表达水平均增高(均 $P < 0.05$);与模型组相比,低剂量组和高剂量组外周血 MDSC 比例、肺组织中 MDSC 计数及 iNOS、TGF-β、ARG1 表达水平均明显降低(均 $P < 0.05$)。与对照组相比,模型组 FEV_{0.3}/FVC 和顺应性降低,气道阻力和小气道病理评分均增高(均 $P < 0.05$);与模型组相比,低剂量组和高剂量组 FEV_{0.3}/FVC 和顺应性明显增高,气道阻力和气道病理评分均明显降低(均 $P < 0.05$)。结论 伊曲康唑能降低外周血 MDSC 比例及肺组织中 MDSC 计数,抑制 MDSC 分泌功能,有助于改善 COPD 大鼠的肺通气功能、降低气道炎症反应。

【关键词】 伊曲康唑 慢性阻塞性肺疾病 骨髓源性抑制细胞 气道炎症

The effect of itraconazole on myeloid-derived suppressor cell in chronic obstructive pulmonary disease model LI Yuan, LI Weiwen, LAN Xiu, et al. Department of Respiratory Medicine, the Fifth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Lishui 323000, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of itraconazole on myeloid-derived suppressor cell (MDSC) in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) model. Methods The COPD model was established by passive cigarette smoke inhalation. 30 COPD model rats were randomly divided into three groups: model group, low-dose itraconazole treatment + model group (low-dose group) and high-dose itraconazole treatment + model group (high-dose group). Another 10 normal rats were chosen for control group. The change of pulmonary function and pathological changes in lung tissue were observed respectively. Flow cytometry and immunofluorescence was used to analyze the proportion of Gr1⁺ CD11b⁺ MDSC in peripheral blood and lung tissue. Western blotting (WB) and real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) were used to detect the protein and mRNA expression of induced synthase (iNOS) and transforming growth factor beta (TGF-β), arginase 1 (ARG1). Results Compare with control group, the MDSC ratio and the expression of iNOS, TGFβ, ARG1 in model group was significantly higher in the model group ($P < 0.05$). Compared with model group, the MDSC ratio and the expression of iNOS, TGFβ, ARG1 were lower in low-dose group and high-dose group were lower ($P < 0.05$). Compared with control group, the FEV_{0.3}/FVC and pulmonary dynamic compliance were lower, the pulmonary airway resistance and airway pathological score were higher ($P < 0.05$). Compared with model group, the FEV_{0.3}/FVC and pulmonary dynamic compliance in low-dose group and high-dose group were higher, but the pulmonary airway resistance and airway pathological score were lower ($P < 0.05$). Conclusion Itraconazole

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.22.2018-2450

基金项目:浙江省自然科学基金(LQ16H160019);浙江省科技厅公益性技术应用研究计划项目(2016C37100)

作者单位:323000 丽水,温州医科大学附属第五医院呼吸内科

通信作者:李伟文, E-mail: 2225257177@qq.com

improves the ventilation function of COPD rats, reduces airway inflammation and its mechanism might be related to the reduction of the proportion of MDSC and inhibition of the MDSC function.

【Key words】 Itraconazole Chronic obstructive pulmonary disease Myeloid-derived suppressor cell Airway inflammation

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是临床上常见的不可逆性呼吸道顺应性下降的慢性肺部疾病^[1],其发病机制与持续炎症反应、氧化应激以及蛋白酶功能紊乱等有关。一些研究发现免疫功能紊乱,尤其是 CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞免疫功能紊乱是导致呼吸道黏膜上皮损害的重要原因^[2]。近年来,有研究表明骨髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)除了参与肿瘤微环境免疫抑制外,还与 COPD 等炎症性疾病密切相关。MDSC 在 COPD 疾病进展中的作用仍存在较大争议^[3-4]。免疫调节剂(如胸腺肽)可缓解 COPD 病情,减少急性发作,其作用机制是否与 MDSC 状态有关仍需进一步探讨。伊曲康唑是一种广谱抗真菌药物^[5],可明显改善 COPD 合并真菌感染患者的病情^[6]。由于缺乏临床用药指征,伊曲康唑仍未应用于治疗非真菌感染性 COPD 患者。近年来,越来越多的学者发现伊曲康唑具有广泛的非抗真菌作用,如抗肿瘤、抗炎、抑制血管生成、调节细胞自噬、免疫调节等^[7-10],但其对无真菌感染性 COPD 患者的 MDSC 的影响仍未明确,因此,本研究观察伊曲康唑对 COPD 模型大鼠 MDSC 的影响及意义,以进一步阐明伊曲康唑治疗 COPD 的内在机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 40 只 6~8 周龄健康雄性 SD 大鼠,许可证号:SCXK(浙)2015-009,体重约 200~250g,购自温州医科大学实验动物中心。

1.2 主要材料 人淋巴细胞分离液 Ficoll-Hypaque 购自北京普博斯生物科技有限公司;Anti-Ly6g(Gr-1)、Anti-CD11b 抗体均购自中国 Abcam 公司;诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)、转化生长因子- β (TGF- β)、精氨酸酶 1 (ARG1)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体均购自美国 CST 公司;伊曲康唑购自上海阿拉丁试剂有限公司;增强化学发光(ECL)试剂盒购自美国 Thermo 公司。

1.3 构建 COPD 模型及实验分组 按随机数字表法将 40 只大鼠分为对照组、模型组、低剂量组和高剂量组 4 组,每组 10 只。对照组给予常规喂养,后 3 组按被动香烟烟雾吸入法构建 COPD 模型^[11],低剂量组和高剂量组大鼠于被动吸烟 12 周后,分别口服 10mg/kg 和 50mg/kg

伊曲康唑,1 次/d,共 4 周。

1.4 大鼠气道阻力和顺应性检查 建立模型 16 周后,采用腹腔注射 10%水合氯醛溶液(3.8ml/kg)将大鼠麻醉,进行气管插管并连接到流速传感器,采用小动物肺功能监测系统观察大鼠呼吸的流量和压力曲线,测量并计算第 0.3s 用力呼气量与用力肺活量的比值(FEV_{0.3}/FVC)、肺顺应性和气道阻力,测量完成后采用空气注射法处死大鼠,为后续试验准备。

1.5 小气道病理学评分 按照文献[12]中的方法,取左肺组织,以 4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,切片,HE 染色后,由经验丰富的工作人员阅片,观察以下指标:(1)小气道腔内黏液和细胞阻塞情况,取阻塞小气道的百分比;(2)小气道上皮坏死糜烂的百分值;(3)上皮细胞杯状化生程度;(4)上皮细胞鳞状化生程度;(5)炎症细胞浸润程度;(6)组织增生程度;(7)平滑肌增生程度;(8)色素沉着程度。3~8 项按正常为 0 分、轻度为 1 分、中度为 2 分、重度为 3 分进行评分,将所观察的小气道评分值相加后,与最大总分数(即 3×小气道数)的比值即为小气道病理学评分值。

1.6 外周血中 MDSC 比例检测 采用流式细胞仪技术。按照实验分组构建模型,并给予伊曲康唑治疗 16 周。收集各组大鼠的外周血液,按照密度-梯度离心法分离各组大鼠的单个核细胞,加入抗体 CD11b 和 Gr-1,冰上避光孵育 20min,采用流式细胞技术分析 Gr-1⁺CD11b⁺ MDSC 比例。

1.7 肺组织中 MDSC 计数检测 采用细胞免疫荧光技术。提取肺组织细胞后,以 4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋、切片、脱蜡,用 0.3%甲醇-过氧化氢溶液灭活内源性过氧化酶,并用 0.1mol/L 柠檬酸盐缓冲液抗原修复。10%山羊血清在 37℃湿盒内处理 30min。加一抗抗体,湿盒中,37℃孵育 1h,4℃过夜;漂洗 2 次后,加入二抗抗体,湿盒中,37℃孵育 1h,漂洗 2 次,加入显示液避光显色 15min,终止反应;苏木精对比染色、脱水、透明、封固、光镜观察 3 个视野,统计细胞数,并计算平均值。

1.8 iNOS、TGF- β 、ARG1 蛋白表达水平检测 采用 Western blot 法。收集适量的右肺组织,并制成匀浆后,加入适量的组织裂解液,冰上裂解 10~15min,4℃离心机中,以 12 000r/min 离心 15min,取上清液。经蛋白定量

后,取 20 μ g 总蛋白 4%~12%聚丙烯酰胺凝胶中,电泳分离;经电转膜后,用 3%脱脂牛奶室温封闭 30~60min。加入一抗(iNOS、TGF- β 、ARG1),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;TBST 缓冲液洗涤,每次 8~10min,共 3 次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 1~2h, TBST 缓冲液洗膜,每次 8~10min,共 3 次,用增强化学发光试剂发光、显影和定影, Image J 软件计算条带的灰度值,以 β -Actin 为内参。上述实验重复 3 次。

1.9 iNOS、TGF- β 、ARG1 mRNA 表达水平检测 采用 RT-PCR 法。收集新鲜的病变肺组织,加入适量的 Trizol 液,提取总 RNA,并合成 cDNA。用 AccuPower[®] Green-star[™] qPCR PreMix 试剂盒配置 20 μ l 的总反应体系,包括:cDNA 1 μ l、上下游引物各 0.8 μ l,qPCR PreMix 10 μ l, 0.9%氯化钠溶液 7.4 μ l,进行 PCR 扩增。扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 30s,95 $^{\circ}$ C 变性 5s,60 $^{\circ}$ C 退火延伸 34s,溶解 65~95 $^{\circ}$ C,每 5s 上升 0.5 $^{\circ}$ C;使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示基因表达情况。引物系列见表 1。

1.10 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两

表 1 引物序列

iNOS	上游:5'-TCTCCCGAAACGCTACACTT-3' 下游:5'-CGTCTGGCGAAGAACAATC-3'
TGF- β	上游:5'-GGACTACTACGCCAAAGAAG-3' 下游:5'-TCAAAAGACAGCCACTCAGG-3'
ARG1	上游:5'-CTCCAAGCCAAAGTCTTAGAG-3' 下游:5'-AGGAGCTGTCATTAGGGACATC-3'
GADPH	上游:5'-CACGGCAAATCAACGGCACA-3' 下游:5'-TCCAGGCGGCACGTCAGATC-3'

两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组大鼠 FEV_{0.3}/FVC、肺顺应性、气道阻力及小气道病理学评分比较 与对照组相比,模型组 FEV_{0.3}/FVC 和肺顺应性明显降低,气道阻力和病理评分明显增高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与模型组相比,低剂量组和高剂量组 FEV_{0.3}/FVC 和顺应性明显增高、气道阻力和病理评分明显降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 2。

表 2 4 组大鼠 FEV_{0.3}/FVC、肺顺应性和小气道阻力及气道病理学评分比较

组别	<i>n</i>	FEV _{0.3} /FVC(%)	气道阻力[cmH ₂ O/(ml·s)]	肺顺应性(ml/cmH ₂ O)	小气道病理评分(分)
低剂量组	10	68.12 \pm 7.23 [△]	0.45 \pm 0.03 [△]	0.28 \pm 0.02 [△]	1.99 \pm 0.31 [△]
高剂量组	10	71.57 \pm 8.16 [△]	0.38 \pm 0.02 [△]	0.32 \pm 0.01 [△]	1.59 \pm 0.24 [△]
模型组	10	53.50 \pm 5.68*	0.66 \pm 0.04*	0.21 \pm 0.03*	3.14 \pm 0.53*
对照组	10	88.45 \pm 7.21	0.27 \pm 0.02	0.39 \pm 0.01	0.98 \pm 0.15
<i>F</i> 值		56.19	500.12	226.84	96.16
<i>P</i> 值		0.00	0.00	0.00	0.00

注:cmH₂O 为厘米水柱;与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$

2.2 4 组大鼠 MDSC 在外周血的比例和肺组织中计数比较 与对照组相比,模型组外周血 MDSC 比例和肺组织中计数均明显增高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与模型组相比,低剂量组和高剂量组外周血 MDSC 比例和肺组织中计数均明显降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 3。

表 3 4 组大鼠 MDSC 在外周血的比例和肺组织中计数比较

组别	<i>n</i>	外周血(%)	肺组织(个/mm ²)
低剂量组	10	16.26 \pm 5.23 [△]	25.15 \pm 7.36 [△]
高剂量组	10	13.46 \pm 5.35 [△]	19.10 \pm 6.56 [△]
模型组	10	20.98 \pm 6.46*	36.15 \pm 8.25*
对照组	10	8.36 \pm 2.08	12.26 \pm 3.58
<i>F</i> 值		15.21	38.14
<i>P</i> 值		0.00	0.00

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$

2.3 4 组大鼠肺组织中 iNOS、TGF- β 、ARG1 表达水平比较 与对照组相比,模型组 iNOS、TGF- β 、ARG1 蛋白和 mRNA 表达上调,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与模型组相比,低剂量组和高剂量组 iNOS、TGF- β 、ARG1 蛋白和 mRNA 表达上调明显降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。见表 4、图 1。

3 讨论

自 1980 年首次成功合成后,伊曲康唑通过其三唑环结构阻断真菌细胞膜麦角固醇的合成来抑制真菌生长,从而发挥其抗真菌药物的作用,临床上常用于治疗浅表真菌感染及深部真菌引起的系统感染,具有良好的疗效和较低的毒性。在 COPD 合并真菌感染治疗中,伊曲康唑亦可使患者获得较好的临床疗效^[6]。本研究结果提示,单一的伊曲康唑可改善 COPD 大鼠的肺功能,减

表 4 4 组大鼠肺组织中 iNOS、TGF- β 、ARG1 表达水平比较

组别	n	iNOS		TGF- β		ARG1	
		蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA
低剂量组	10	1.12 \pm 0.21 [△]	1.35 \pm 0.25 [△]	1.38 \pm 0.29 [△]	1.48 \pm 0.14 [△]	0.88 \pm 0.19 [△]	1.42 \pm 0.13 [△]
高剂量组	10	1.04 \pm 0.18 [△]	1.29 \pm 0.20 [△]	1.16 \pm 0.25 [△]	1.32 \pm 0.16 [△]	0.81 \pm 0.21 [△]	1.39 \pm 0.11 [△]
模型组	10	2.11 \pm 0.27*	2.18 \pm 0.34*	1.88 \pm 0.30*	2.21 \pm 0.18*	1.58 \pm 0.33*	1.96 \pm 0.23*
对照组	10	0.49 \pm 0.03	1.00 \pm 0.00	0.68 \pm 0.09	1.00 \pm 0.00	0.21 \pm 0.14	1.00 \pm 0.00
F 值		189.68	67.24	57.18	186.27	86.45	102.86
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$

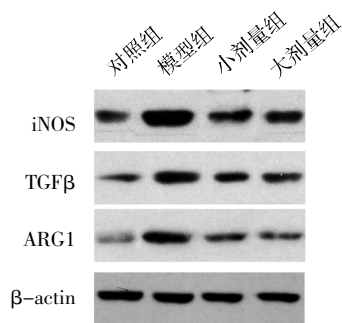


图 1 4 组大鼠肺组织中 iNOS、TGF- β 、ARG1 表达的电泳图

轻大鼠气道炎症反应,具有抑制肺部炎性损伤作用,提示伊曲康唑具有潜在的治疗 COPD 的作用。

MDSC 是一群由髓源性祖细胞在不同阶段分化的未成熟异质性细胞群,缺乏成熟性中性粒细胞、巨噬细胞或树突细胞的细胞表型,其鼠源性 MDSC 表型以 Ly6g(Gr-1)和 CD11b 为标志,人源性 MDSC 表型则为 LIN-HLA-DR-CD33⁺或 CD11b⁺CD14⁻CD33⁺[13]。在炎症性疾病、创伤应激、自身免疫疾病、脓毒症,尤其是肿瘤微环境中,MDSC 可通过分泌 ARG1 和 iNOS,增加局部氧自由基含量和炎性细胞因子(如 TGF- β),降低 L-精氨酸的含量,抑制 T 细胞增殖和免疫功能。此外,MDSC 还可以直接与调节性 T 细胞、Th1 细胞相互作用,起到间接免疫抑制作用[13-15]。近年来,越来越多的研究发现非肿瘤性肺部疾病中,如肺纤维化、肺动脉高压、急慢性肺炎均具有不同程度的免疫功能紊乱的现象,且其机制可能与 MDSC 的免疫抑制作用有关[16-17]。有学者发现 COPD 患者的外周血中 MDSC 比例明显增加,且伴随有调节性 T(Treg)细胞比例增加和 T 细胞功能紊乱,这提示 MDSC 参与 COPD 患者免疫调节的过程[13]。本研究在构建的 COPD 大鼠模型中也发现外周血 MDSC 比例及肺组织中 MDSC 计数均较对照组明显增高,肺组织中 iNOS、TGF- β 、ARG1 表达也明显增高,提示 MDSC 可能与 COPD 疾病发生、发展有关。在经过低剂量和高剂量的伊曲康唑治疗后,外周血 MDSC 比例、肺组织中 MD-

SC 计数和 iNOS、TGF- β 、ARG1 均明显下降,提示伊曲康唑对 MDSC 具有调节作用。

通过本研究,笔者初步证实了在 COPD 大鼠模型中,外周血 MDSC 比例、肺组织中 MDSC 计数以及其分泌的细胞因子(包括 iNOS、TGF- β 、ARG1)明显增加。而伊曲康唑可改善 COPD 大鼠的肺功能,减轻肺部炎症性反应,具有抑制肺部损伤作用,但由于实验过程中未涉及到伊曲康唑是否参与 MDSC 抑制 T 细胞功能的研究,因此仍未明确伊曲康唑对 COPD 免疫抑制状态是否有影响,需进一步研究证实。

综上所述,伊曲康唑降低 COPD 大鼠的 MDSC 比例以及细胞因子,有助于改善 COPD 大鼠的肺功能、减轻气道炎症反应关。

4 参考文献

- [1] Rabe KF, Watz H. Chronic obstructive pulmonary disease [J]. Lancet, 2017, 389(10082): 1931-1940. DOI:10.1016/S0140-6736(17)31222-9.
- [2] Brusselle GG, Joos GF, Bracke KR. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Lancet, 2011, 378(9795): 1015-1026. DOI:10.1016/S0140-6736(11)60988-4.
- [3] Tan DB, Fernandez S, Price P, et al. The proportion and function of peripheral myeloid-derived suppressor cells do not correlate with systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Human immunology, 2014, 75(1): 5-9. DOI:10.1016/j.humimm.2013.09.011.
- [4] Scrimini S, Pons J, Agusti A, et al. Differential effects of smoking and COPD upon circulating myeloid derived suppressor cells[J]. Respiratory medicine, 2013, 107(12): 1895-1903. DOI:10.1016/j.rmed.2013.08.002.
- [5] Head SA, Shi W, Zhao L, et al. Antifungal drug itraconazole targets VDAC1 to modulate the AMPK/mTOR signaling axis in endothelial cells [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(52): e7276-7285. DOI:10.1073/pnas.1512867112.
- [6] 陈新芝, 张亚飞. 伊曲康唑在慢性阻塞性肺疾病合并真菌感染治疗的疗效评价[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(5): 868-870. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2017.05.025.
- [7] Head SA, Shi WQ, Yang EJ, et al. Simultaneous Targeting of

- NPC1 and VDAC1 by Itraconazole Leads to Synergistic Inhibition of mTOR Signaling and Angiogenesis[J]. *ACS chemical biology*, 2017, 12(1): 174–182. DOI:10.1021/acscchembio.6b00849.
- [8] Wang X, Wei S, Zhao Y, et al. Anti-proliferation of breast cancer cells with itraconazole: Hedgehog pathway inhibition induces apoptosis and autophagic cell death[J]. *Cancer letters*, 2017, 385: 128–136. DOI:10.1016/j.canlet.2016.10.034.
- [9] Liang G, Liu M, Wang Q, et al. Itraconazole exerts its anti-melanoma effect by suppressing Hedgehog, Wnt, and PI3K/mTOR signaling pathways[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28510–18525. DOI: 10.18632/oncotarget.15324.
- [10] 梁官钊, 郑晓丽, 刘维达. 伊曲康唑的免疫调节作用及其临床应用——重新认识伊曲康唑[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2018,32(11): 112–116. DOI:CNKI:SUN:ZBFX.0.2018–11–029
- [11] Liu Z, Geng W, Jiang C, et al. Hydrogen-rich saline inhibits tobacco smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease by alleviating airway inflammation and mucus hypersecretion in rats[J]. *Experimental Biology & Medicine*, 2017, 242(15):1534–1541. DOI:10.1177/1535370217725249.
- [12] 廖程程, 陈亚红, 林帆, 等. 皮质抑素在慢性阻塞性肺疾病大鼠中的变化及其意义[J]. *中华医学杂志*, 2015,95(22):1722–1725. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376–2491. 2015.22.004.
- [13] Scrimini S, Pons J, Sauleda J. Myeloid-Derived Suppressor Cells: Possible Link Between Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Lung Cancer[J]. *Archivos de bronconeumologia*, 2016, 52(1): 29–35. DOI:10.1016/j.arbr.2015.11.006.
- [14] Patel JJ, Rosenthal MD, McClave SA, et al. Tempering the Clinical Effects of Early Myeloid Derived Suppressor Cell Expansion in Severe Sepsis and Septic Shock[J]. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2018, 197(5):677–678. DOI: 10.1164/rccm.201709–1854LE.
- [15] Husecken Y, Muche S, Kustermann M, et al. MDSCs are induced after experimental blunt chest trauma and subsequently alter antigen-specific T cell responses[J]. *Scientific reports*, 2017, 7(1): 12808–12820. DOI:10.1038/s41598–017–13019–6.
- [16] Bryant AJ, Shenoy V, Fu C, et al. Myeloid-derived Suppressor Cells are Necessary for Development of Pulmonary Hypertension[J]. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 2018, 58(2):170–180. DOI:10.1165/rccm.2017–0214OC.
- [17] Sendo S, Saegusa J, Okano T, et al. CD11b+ Gr1dim Tolerogenic Dendritic Cell-like Cells are Expanded in Interstitial Lung Disease in SKG Mice [J]. *Arthritis & rheumatology*, 2017,69(12): 2314–2327. DOI:10.1002/art.40231.

(收稿日期:2018–09–28)

(本文编辑:俞骏文)

(上接第 2355 页)

毒症病因鉴别的重要性;而在妊娠期甲亢 ATD 药物的选择、使用(及确诊妊娠时停用)和监测调整方面新版指南则更加细化,尤其对确定妊娠后 ATD 药物的治疗和监测策略作了修正,为临床医生对妊娠期间甲状腺毒症相关问题作出临床决策提供了参考,也突出了中国特色。然而,依然有不少建议需要更多、更有力的循证医学证据支持,以保持指南的实用性和先进性。

5 参考文献

- [1] 中华医学会内分泌学分会,中华医学会围产医学分会.《妊娠和产后甲状腺疾病诊治指南》(第2版)[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2019, 35(8): 636–655. DOI:10.3760/cma.j.issn.1000–6629.2019.08.003.
- [2] 中华医学会内分泌学分会,中华医学会围产医学分会.妊娠和产后甲状腺疾病诊治指南[J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2012, 15(7):354–371. DOI:10.3760/cma.j.issn.1007–9408.2012.07.001.
- [3] Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum [J]. *Thyroid*. 2017, 27(3):315–389. DOI: 10.1089/thy.2016.0457.
- [4] Li C, Shan Z, Mao J, et al. Assessment of thyroid function during first-trimester pregnancy: what is the rational upper limit of serum TSH during the first trimester in Chinese pregnant women? [J]. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014, 99(1):73–79. DOI: 10.1210/jc.2013–1674.
- [5] Gao X, Li Y, Li J, et al. Gestational TSH and FT₄ Reference Intervals in Chinese Women: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018, 9:432. DOI: 10.3389/fendo.2018.00432.
- [6] Dong AC, Stagnaro-Green A. Differences in Diagnostic Criteria Mask the True Prevalence of Thyroid Disease in Pregnancy: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *Thyroid*. 2019, 29(2): 278–289. DOI: 10.1089/thy.2018.0475.
- [7] Casey BM, Dashe JS, Wells CE, et al. Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes[J]. *Obstet Gynecol*. 2006, 107(2 Pt 1): 337–341. DOI:10.1097/01.AOG.0000197991.64246.9a.
- [8] Papendieck P, Chiesa A, Prieto L, et al. Thyroid disorders of neonates born to mothers with Graves' disease[J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2009,22(6):547–553. DOI: 10.1515/jpem.2009.22.6.547.
- [9] Andersen SL, Olsen J, Laurberg P. Foetal programming by maternal thyroid disease[J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015, 83(6):751–758. DOI: 10.1111/cen.12744.
- [10] Laurberg P, Andersen SL. Therapy of endocrine disease: antithyroid drug use in early pregnancy and birth defects: time windows of relative safety and high risk? [J]. *Eur J Endocrinol*. 2014, 171(1):13–20. DOI:10.1530/EJE–14–0135.
- [11] Andersen SL, Olsen J, Wu CS, et al. Birth defects after early pregnancy use of antithyroid drugs: a Danish nationwide study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013, 98(11):4373–4381. DOI: 10.1210/jc.2013–2831.

(本文由浙江省医师协会推荐)

(收稿日期:2019–10–20)

(本文编辑:俞骏文)