

# 甲状腺相关眼病患者血清 sICAM-1、sVCAM-1 及微小 RNA-146a 的表达

赵 勇

基金项目:河南省科技发展计划项目(No. 132300410106)  
作者单位:(471000)中国河南省洛阳市,河南科技大学第二附属医院眼科  
作者简介:赵勇,副主任医师,主任,研究方向:眼底病、眼眶病。  
通讯作者:赵勇. syjyys@163.com  
收稿日期:2016-11-01 修回日期:2017-02-14

## Expression of sICAM-1, sVCAM-1 and miRNA-146a in serum of patients with thyroid associated ophthalmopathy

Yong Zhao

**Foundation item:** Science and Technology Developing Project of Henan (No. 132300410106)

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan Province, China

**Correspondence to:** Yong Zhao. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan Province, China. syjyys@163.com

Received:2016-11-01 Accepted:2017-02-14

## Abstract

• **AIM:** To study serum soluble intercellular adhesion molecules -1 (sICAM-1), soluble vascular cell adhesion molecule -1 (sVCAM-1) and expression of miRNA-146a in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) and its significance in patients with thyroid associated ophthalmopathy (TAO).

• **METHODS:** From June 2014 to December 2015 in our hospital, 37 patients with TAO (TAO group), 40 patients with hyperthyroidism without TAO (non eye disease group) and 30 healthy people (control group) were enrolled and the serum concentrations of sICAM-1, sVCAM-1 and expression of miRNA-146a in PBMC were detected.

• **RESULTS:** The serum sICAM-1 and sVCAM-1 of TAO group were  $366.14 \pm 67.28 \mu\text{g/L}$ ,  $211.07 \pm 27.45 \mu\text{g/L}$  level was significantly higher than those of non eye disease group ( $286.62 \pm 51.09 \mu\text{g/L}$ ,  $179.83 \pm 25.09 \mu\text{g/L}$ ) and healthy group ( $234.51 \pm 38.969 \mu\text{g/L}$ ,  $164.51 \pm 22.57 \mu\text{g/L}$ ) ( $P < 0.05$ ). In TAO group, miRNA-146a ( $0.071 \pm 0.016$ ) in PBMC was lower than that in non eye disease group ( $0.381 \pm 0.084$ ) and healthy group ( $1.105 \pm 0.216$ ) ( $P < 0.05$ ). The serum levels of sICAM-1 and sVCAM-1 were significantly higher in non eye disease group than in healthy group ( $P < 0.05$ ), and the expression of RNA-146a

in PBMC was lower in the non eye disease group than in the healthy group ( $P < 0.05$ ). The serum levels of sICAM-1 and sVCAM-1 in the mild TAO group were significantly lower than those in the moderate-severe groups and extremely severe group ( $P < 0.05$ ), and the miRNA-146a expression in the mild TAO group was higher than those in the moderate-severe group and extremely severe group ( $P < 0.05$ ). The serum levels of sICAM-1 and sVCAM-1 were significantly lower in the moderate-severe group than those in the extremely severe group ( $P < 0.05$ ), and the expression of miRNA-146a in the moderate-severe group was significantly higher than that in the extremely severe group ( $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** Serum sICAM-1, sVCAM-1 in TAO patients is with high expression, miRNA-146a in PBMC in TAO patients with low expression, and related to the degree of patient's condition.

• **KEYWORDS:** thyroid associated ophthalmopathy; soluble intercellular adhesion molecules -1; soluble vascular cell adhesion molecule-1; miRNA-146a

**Citation:** Zhao Y. Expression of sICAM-1, sVCAM-1 and miRNA-146a in serum of patients with thyroid associated ophthalmopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(3):580-582

## 摘要

**目的:** 探讨甲状腺相关眼病(thyroid associated ophthalmopathy, TAO)患者血清可溶性细胞间黏附分子-1 (serum soluble intercellular adhesion molecules -1, sICAM-1)、可溶性血管细胞黏附分子-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1, sVCAM-1) 及外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)中微小 RNA-146a 的表达及其意义。

**方法:** 选取 2014-06/2015-12 在我院诊治的 TAO 患者 37 例(TAO 组)、甲状腺功能亢进不伴有眼病患者 40 例(非眼病组)、健康人群 30 例(健康组),检测各组血清 sICAM-1、sVCAM-1 及 PBMC 中微小 RNA-146a 表达。**结果:** TAO 组的血清 sICAM-1 ( $366.14 \pm 67.28 \mu\text{g/L}$ )、sVCAM-1 ( $211.07 \pm 27.45 \mu\text{g/L}$ ) 水平显著高于非眼病组 ( $286.62 \pm 51.09 \mu\text{g/L}$ ,  $179.83 \pm 25.09 \mu\text{g/L}$ ) 和健康组 ( $234.51 \pm 38.969 \mu\text{g/L}$ ,  $164.51 \pm 22.57 \mu\text{g/L}$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), TAO 组 PBMC 中微小 RNA-146a ( $0.071 \pm 0.016$ ) 低于非眼病组 ( $0.381 \pm 0.084$ ) 和健康组 ( $1.105 \pm 0.216$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 非眼病组的血清 sICAM-1、sVCAM-1 水平显著高于健康组 ( $P < 0.05$ ), 非眼病组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达低于健康组 ( $P < 0.05$ )。轻度组的血清 sICAM-1、sVCAM-1 水平显著低于中重度组和极重度组 ( $P < 0.05$ ), 轻度组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达高于中重度组和极重度组 ( $P < 0.05$ );

中重度组的血清 sICAM-1、sVCAM-1 水平显著低于极重度组 ( $P<0.05$ ), 中重度组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达高于极重度组 ( $P<0.05$ )。

**结论:**血清 sICAM-1、sVCAM-1 在 TAO 患者中高表达, PBMC 中微小 RNA-146a 在 TAO 患者低表达, 并且与患者的病情程度有关。

**关键词:**甲状腺相关眼病; 细胞间黏附分子-1; 可溶性血管细胞黏附分子-1; 微小 RNA-146a

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.3.53

**引用:**赵勇. 甲状腺相关眼病患者血清 sICAM-1、sVCAM-1 及微小 RNA-146a 的表达. 国际眼科杂志 2017;17(3):580-582

## 0 引言

甲状腺相关眼病 (thyroid associated ophthalmopathy, TAO) 是临床上较为常见的甲状腺功能亢进合并症, 相关研究显示 TAO 的发病率可达 0.007% 以上, 且近年来呈现出明显的上升趋势<sup>[1]</sup>。临床上 TAO 的长期发生发展可以导致突眼、视力下降等不良临床预后的发生<sup>[2]</sup>。现阶段临床上主要根据患者的眼部症状进行早期的 TAO 病情评估和诊断, 虽然超声或者 CT 检查可以提高 TAO 的早期诊断水平, 但相关检查的漏诊率和误诊率仍然较高<sup>[3]</sup>, 且对于患者 TAO 病情的评估价值较低。血清学指标在疾病的诊断及临床预后评估中具有重要的参考价值, 且其检测方式较为简便、经济, 短期内可反复测量。本研究通过选取 2014-06/2015-12 在我院诊治的 TAO 患者 37 例, 探讨了可溶性细胞间黏附分子-1 (serum soluble cell adhesion molecules in patients with-1, sICAM-1)、可溶性血管细胞黏附分子-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1, sVCAM-1) 及外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) 中微小 RNA-146a 的表达, 报告如下。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 选取 2014-06/2015-12 在我院诊治的 TAO 患者 37 例 (TAO 组)、甲状腺功能亢进不伴有眼病患者 40 例 (非眼病组)、健康人群 30 例 (健康组)。TAO 组, 男 7 例, 女 30 例, 年龄 23~56 (平均 35.8±12.1) 岁; 根据甲状腺相关眼病疾病病情严重程度评估标准 (EUGOGO): 轻度 12 例, 中重度 16 例, 极重度 9 例。非眼病组, 男 11 例, 女 29 例, 年龄 25~58 (平均 37.0±14.2) 岁。正常组男 5 例, 女 25 例, 年龄 24~55 (平均 36.2±11.7) 岁。三组研究对象的年龄、性别差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

**1.1.1 纳入标准** (1) TAO 和 GD 患者的诊断标准参考 Benjamin 等<sup>[4]</sup> 诊断标准; (2) 患者近 6mo 内未服用抗甲状腺素药物、糖皮质激素、免疫抑制剂; (3) 年龄 18~59 岁; (4) 健康组对象来源于本院体检中心健康的人群; (5) 获得研究对象的知情同意, 本研究实施前取得医学伦理委员会同意。

**1.1.2 排除标准** (1) 合并肝肾功能障碍、造血系统疾病的患者; (2) 妊娠及哺乳期妇女; (3) 肿瘤疾病患者; (4) 合并免疫性疾病的患者; (5) 全身感染性疾病患者。

## 1.2 方法

**1.2.1 sICAM-1 和 sVCAM-1 的检测** 清晨采集空腹静脉血, 按照 10 000r/min 的离心速度进行离心分离血清, -20℃ 保存待测, 采集标本后 1wk 内检测 sICAM-1 和

**表 1 血清 sICAM-1、sVCAM-1 及 PBMC 中微小 RNA-146a 表达比较**

| 组别       | 例数 | sVCAM-1 (μg/L)              | sICAM-1 (μg/L)              | RNA-146a                   |
|----------|----|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| TAO 组    | 37 | 366.14±67.28 <sup>a,c</sup> | 211.07±27.45 <sup>a,c</sup> | 0.071±0.016 <sup>a,c</sup> |
| 非眼病组     | 40 | 286.62±51.09 <sup>a</sup>   | 179.83±25.09 <sup>a</sup>   | 0.381±0.084 <sup>a</sup>   |
| 健康组      | 30 | 234.51±38.96                | 164.51±22.57                | 1.105±0.216                |
| <i>F</i> |    | 37.085                      | 21.164                      | 59.175                     |
| <i>P</i> |    | <0.001                      | <0.001                      | <0.001                     |

注: <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 健康组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 非眼病组。

**表 2 不同病情程度 TAO 患者血清 sICAM-1、sVCAM-1 及 PBMC 中微小 RNA-146a 表达情况**

| TAO 病情   | 例数 | sVCAM-1 (μg/L)              | sICAM-1 (μg/L)              | RNA-146a                   |
|----------|----|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 轻度组      | 12 | 312.54±52.77 <sup>a,c</sup> | 188.62±22.09 <sup>a,c</sup> | 0.133±0.012 <sup>a,c</sup> |
| 中重度组     | 16 | 352.35±54.09 <sup>c</sup>   | 206.51±24.16 <sup>c</sup>   | 0.052±0.013 <sup>c</sup>   |
| 极重度组     | 9  | 392.86±61.04 <sup>a</sup>   | 250.49±25.43 <sup>a</sup>   | 0.031±0.010 <sup>a</sup>   |
| <i>F</i> |    | 31.195                      | 16.4                        | 51.149                     |
| <i>P</i> |    | <0.001                      | <0.001                      | <0.001                     |

注: <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 中重度组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 极重度组。

sVCAM-1, 采用瑞士罗氏全自动生化分析仪 E170 模块进行检测。具体检测方法参照试剂盒说明书, 试剂盒内配有质控血清或质控标准品, 所有操作严格按照操作说明完成 sICAM-1 和 sVCAM-1 的检测。

**1.2.2 RNA-146a 的测定** 采集肘部静脉血 5mL, 按照 10 000r/min 的离心速度进行离心分离, 每 1mL 的 Trizol 试剂裂解的样品中加入 0.2mL 的氯仿, 进行裂解操作, 4℃ 冰上采用无酶的 RNA 冲洗液进行洗涤, 再次 10 000r/min 离心 5min, 得到 RNA。混合液在加入逆转录酶之前先 70℃ 干浴 3min, 取出后立即冰水浴至管内外温度一致, 然后加逆转录酶 0.5μL, 37℃ 水浴 60min, 室温放置 5min 使其完全溶解, 使其逆转录为 cDNA。以 β-actin 为模版, 在反应体系中加入 SYBR Green 1 染料、上游引物、下游引物、dNTP, 使得总体积达 20μL, 上机, 反应条件为: 93℃ 2min, 93℃ 1min, 55℃ 2min, 共 40 个循环, 完成 RNA-146a 的测定。

统计学分析: 数据统计分析采用 SAS10.0 进行处理, 计量数据采用均数±标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 进行统计描述, 三组间比较采用单因素方差分析法, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, 以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 三组研究对象的血清 sICAM-1、sVCAM-1 及 PBMC 中微小 RNA-146a 表达情况** TAO 组的血清 sICAM-1 和 sVCAM-1 水平显著高于非眼病组和健康组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ), TAO 组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达低于非眼病组和健康组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 非眼病组的血清 sICAM-1 和 sVCAM-1 水平显著高于健康组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 非眼病组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达低于健康组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ , 表 1)。

**2.2 不同病情程度 TAO 患者血清 sICAM-1、sVCAM-1 及 PBMC 中微小 RNA-146a 表达情况** 轻度组的血清 sICAM-1、sVCAM-1 水平显著低于中重度组和极重度组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 轻度组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达高于中重度组和极重度组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 中重度组的血清 sICAM-1、sVCAM-1 水平显著低于极重度组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ),

中重度组 PBMC 中微小 RNA-146a 表达高于极重度组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ,表2)。

### 3 讨论

自身免疫功能的紊乱、遗传易感因素等均可以促进甲状腺功能亢进的发生发展,在年龄介于 25~35 岁的人群中,甲亢的发病率可上升 3~4 倍<sup>[5]</sup>。Graves 病患者体内的总甲状腺激素(total thyroxin,TT)、游离甲状腺激素(free thyroxin,FT)等均可显著上升,上升的甲状腺激素可以通过高代谢、高能量消耗及下丘脑-垂体-甲状腺轴的紊乱等,进而促进甲状腺功能亢进性心脏病、TAO 等的发生。一项汇集了 156 例样本量的研究显示,1.6% 的甲状腺功能亢进患者可合并有 TAO,特别是具有明显高代谢症状或者甲状腺毒症的患者中,TAO 的发病率可进一步上升,且病情更为严重<sup>[6]</sup>。对于 TAO 的早期临床诊断具有重要的意义,可以指导或者为临床上糖皮质激素等治疗措施的及时干预提供参考。

sICAM-1、sVCAM-1 等可以通过促进眼部局部免疫复合物的沉积,加剧自身免疫性成分的激活,进而促进相关代谢毒物在眼部的沉积,促进 TAO 的发生发展<sup>[7-8]</sup>。相关基础研究也显示,sICAM-1、sVCAM-1 对于眼部血管内皮的损伤,可以促进眼部自主神经功能的退化,导致患者远期视力等的障碍<sup>[9-10]</sup>;微小 RNA-146a 对于 TAO 患者的眼部组织或者自主神经具有一定的保护作用,微小 RNA-146a 浓度的维持可以抑制高甲状腺毒症对于眼部的损伤<sup>[11-12]</sup>。虽然有研究探讨了 sICAM-1、sVCAM-1 等在 TAO 患者中的异常表达,但缺乏对于不同病情严重程度中相关血清学指标的变化研究,存在一定的不足。

本研究发现,TAO 组患者的血清中 sICAM-1、sVCAM-1 的表达明显高于单纯甲亢组或者正常对照人群,差异具有统计学意义,表明 sICAM-1、sVCAM-1 等可能在促进 TAO 的发生发展过程中发挥了重要的调节作用。sICAM-1、sVCAM-1 可以通过诱导自身补体成分的激活,加剧高甲状腺毒症的代谢损伤,进而促进 TAO 的发生发展。黄光初<sup>[7]</sup>和张祎等<sup>[13]</sup>研究者通过回顾性分析了 82 例样本量的临床资料,发现在 TAO 患者血清中,sICAM-1、sVCAM-1 等可分别上升 25%、20% 以上,且相关血清学指标的上升越为明显,患者的 TAO 病情往往越为严重,这与本研究的结论较为一致。相关的是,在 TAO 患者血清中,微小 RNA-146a 的表达明显下降,微小 RNA-146a 的下降失去了其对于甲状腺毒症的损伤保护作用,从而导致患者的眼部组织直接暴露在高甲状腺毒症的损伤下。但需要注意的是,刘欢等<sup>[14]</sup>研究中并未发现 TAO 患者血清中微小 RNA-146a 或者其他 RNA 水平的变化,这与本研究的结论存在一定的差别,考虑到样本量的不足、检测方法的不统一及随访时间的差别等,均可能导致了最终结论

的差别。在不同的病情程度下,血清 sICAM-1、sVCAM-1 的表达差异同样较为明显,TAO 的病情越为严重,血清 sICAM-1、sVCAM-1 的表达越高,趋势较为明显,而 TAO 的病情越为严重,患者的血清中微小 RNA-146a 的表达越低,进一步提示了微小 RNA-146a 等的表达与 TAO 患者病情严重程度间的关系。

综上所述,在 TAO 患者血清中,血清 sICAM-1、sVCAM-1 的表达明显上升,而微小 RNA-146a 的表达明显下降,通过对于血清中相关指标的检测可以为评估 TAO 患者的病情严重程度提供一定的参考。

### 参考文献

- 1 Di Girolamo D, Ambrosio R, De Stefano MA, et al. Reciprocal interplay between thyroid hormone and microRNA - 21 regulates hedgehog pathway-driven skin tumorigenesis. *J Clin Invest* 2016;126(6):2308-2320
- 2 张明伟. 99Tc-MDP 联合甲泼尼龙琥珀酸钠粉针冲击治疗甲状腺相关眼病的临床疗效. *中国老年学杂志* 2015;25(6):1674-1675
- 3 李方都,褚俏梅,张立颖,等. 99mTc-DTPA 眼眶显像用于甲状腺相关眼病患者综合评价. *中国实用眼科杂志* 2015;33(9):1008-1012
- 4 Benjamin H, Schnitzer-Perlman T, Shtabsky A, et al. Analytical validity of a microRNA-based assay for diagnosing indeterminate thyroid FNA smears from routinely prepared cytology slides. *Cancer Cytopathol* 2016;124(10):711-721
- 5 Prazeres H, Torres J, Rodrigues F, et al. Chromosomal, epigenetic and microRNA-mediated inactivation of LRP1B, a modulator of the extracellular environment of thyroid cancer cells. *Oncogene* 2016;32(5):90-93
- 6 Pohl M, Grabellus F, Worm K, et al. Intermediate microRNA expression profile in Graves' disease falls between that of normal thyroid tissue and papillary thyroid carcinoma. *J Clin Pathol* 2016;32(5):34-36
- 7 黄光初. TAO 活动期与静止期血清 sICAM-1 及 HA 的检测价值. *现代中西医结合杂志* 2014;32(6):602-603
- 8 刘金泉,夏宇靖,李宁,等. 不同类型甲状腺疾病患者可溶性细胞间黏附分子-1 变化及临床意义. *山东医药* 2012;26(17):46-48
- 9 吴军,钱云峰,许卫国,等. 高龄非甲状腺性病态综合征患者外周血单核细胞的功能变化. *广东医学* 2016;25(1):69-72
- 10 刘振华,朱豫. 甲状腺相关眼病患者血清可溶性细胞间黏附分子-1 和可溶性血管细胞黏附分子-1 的检测及临床意义. *眼科新进展* 2013;35(4):360-362
- 11 Hua K, Jin J, Zhang H, et al. MicroRNA-7 inhibits proliferation, migration and invasion of thyroid papillary cancer cells via targeting CKS2. *Int J Oncol* 2016;25(5):90-95
- 12 郑迎娟,张乃键,赵超,等. 甲状腺功能相关微 RNA 的研究进展. *医学综述* 2015;32(11):1956-1958
- 13 张祎,张险峰,韩辉,等. 中小剂量甲泼尼龙联合甲氨蝶呤与硒酵母对 Graves 眼病的疗效观察. *中华内分泌代谢杂志* 2016;22(1):24-26
- 14 刘欢,宋守君,薛海波. 微小 RNA 在自身免疫性甲状腺疾病发病中的作用. *山东医药* 2016;29(25):111-113