DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.11.013

# 基于NLRP3/Caspase-1/GSDMD通路探讨逍遥散加味对实验性自身免疫性甲状腺炎模型大鼠细胞焦亡的机制影响

赵培伯[1],戚晓楠[2],贾春艳[1],张兰[2]
(1.辽宁中医药大学,辽宁 沈阳 110847;2.辽宁中医药大学附属医院,辽宁 沈阳 110032)

**摘要**:目的 基于细胞焦亡NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)/含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1(Caspase-1)/消皮素D(GSDMD)信号通路,以实验性自身免疫性甲状腺炎(Experimental autoimmune thyroiditis,EAT)模型大鼠为研究对象,探究逍遥散加味治疗桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis,HT)的作用机制。方法 40只SD大鼠随机分配空白组10只、造模组30只。造模组经皮下多点注射猪甲状腺球蛋白佐剂免疫乳结合饮用高碘水建立EAT大鼠模型。成模后随机分为模型组10只、逍遥散加味组10只及硒酵母组10只。逍遥散加味组予7.65 g/(kg·d)逍遥散加味溶液,硒酵母组予36 μg/(kg·d)硒酵母片水溶液,余两组均予蒸馏水等体积灌胃。8周后,HE染色观察EAT大鼠甲状腺组织形态结构;透射电子显微镜下观察EAT大鼠甲状腺滤泡上皮细胞超微结构;酶联免疫吸附测定法(Enzym-linkedimmunosorbent assay,ELISA)检测EAT大鼠血清甲状腺过氧化物酶抗体(Thyroid peroxidase antibody,TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(Thyroglobulin antibody,TgAb)水平、白细胞介素-1β(Interleukin-1β,IL-1β)、白细胞介素-18(Interleukin-18,IL-18)水平;Western Blot检测EAT大鼠甲状腺组织细胞焦亡相关蛋白表达。结果 ①HE染色及透射电镜结果示:模型组大鼠甲状腺组织存在明显的病理损伤,甲状腺滤泡上皮细胞膜结构模糊、破损,线粒体明显肿胀,膜结构模糊、溶解,粗面内质网扩张;各治疗组的大鼠甲状腺病理损伤程度均减轻,线粒体与内质网损伤程度均有减轻,其中逍遥散加味组减轻程度最为明显。②ELISA检测可见:模型组大鼠血清TgAb、TPOAb抗体及血清IL-1β、IL-18水平较空白组呈显著升高趋势($P<0.01$),各治疗组均能降低大鼠血清TPOAb、TgAb抗体及血清IL-1β、IL-18水平($P<0.01$,$P<0.05$),逍遥散加味组下降尤甚。③WB检测各组焦亡相关蛋白表达水平所示:模型组大鼠甲状腺组织NLRP3、Cleaved-Caspase-1、GSDMD-N、凋亡相关的斑点样蛋白(ASC)蛋白的表达水平均呈显著升高趋势($P<0.01$),余治疗组均显著下降($P<0.01$,$P<0.05$),以逍遥散加味组降低程度最为明显。结论 逍遥散加味减轻甲状腺组织的病理损伤,降低TPOAb、TgAb抗体水平,抑制细胞焦亡状态,其作用机制可能与调控NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路相关。

**关键词**:逍遥散加味;NLRP3/Caspase-1/GSDMD通路;细胞焦亡;实验性自身免疫性甲状腺炎
**中图分类号**:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)11-0055-06

## Exploring Mechanism and Effect of Modified Xiaoyao Powder(逍遥散加味) on Cell Pyroptosis in Experimental Autoimmune Thyroiditis Model Rats Based on NLRP3/Caspase-1/GSDMD Pathway

ZHAO Peibo[1],QI Xiaonan[2],JIA Chunyan[1],ZHANG Lan[2]
(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110847,Liaoning,China;
2. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,Shenyang 110032,Liaoning,China)

**Abstract**:*Objective* Based on the NOD like receptor heat protein domain associated protein 3(NLRP3)/cysteine containing aspartic protease 1(Caspase-1)/deskininoid D(GSDMD) signaling pathway,experimental autoimmune thyroiditis(EAT) model rats were used as the research subjects to explore the mechanism of action of Modified Xiaoyao Powder(逍遥散加味) in the treatment of Hashimoto's thyroiditis(HT). *Methods* Forty SD rats were randomly assigned to a blank group(10 rats) and a model group(30 rats). The EAT rat model was established by subcutaneous multi-point injection of pig thyroglobulin adjuvant immunoemulsion combined with drinking high iodine water. After modeling,the rats were randomly divided into a model group(10

**基金项目**:国家自然科学基金青年科学基金项目(82305275);国家中医药管理局全国名老中医药专家传承工作室项目(国中医药人教函〔2022〕75号)

**作者简介**:赵培伯(1991-),女,辽宁盖县人,主治医师,博士在读,研究方向:中西医结合内分泌。
**通讯作者**:张兰(1962-),女,辽宁沈阳人,教授,博士研究生导师,博士,研究方向:中西医结合内分泌。E-mail:zhanglanzhu@163.com。

rats), a Modified Xiaoyao Powder group (10 rats), and a selenium yeast group (10 rats). The Modified Xiaoyao Powder group was given 7.65 g/(kg · d) Modified Xiaoyao Powder solution, the selenium yeast group was given 36 μg/(kg · d) selenium yeast tablet aqueous solution, and the remaining two groups were given distilled water by gavage of equal volume. After 8 weeks, HE staining was used to observe the morphological structure of thyroid tissue in EAT rats. The ultrastructure of thyroid follicular epithelial cells in EAT rats was observed under transmission electron microscopy. Enzym - linkedimmunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of serum thyroid peroxidase antibody (TPO Ab), thyroid globulin antibody (TgAb), interleukin - 1β (IL - 1β), and interleukin - 18 (IL - 18) in EAT rats. Western Blot was used to detect the expressions of apoptosis related proteins in thyroid tissue cells of EAT rats. *Results* ①The results of HE staining and transmission electron microscopy showed that there was obvious pathological damage in the thyroid tissue, the membrane structure of thyroid follicular epithelial cells was blurred and damaged, the mitochondria were obviously swollen, the membrane structure was blurred and dissolved, and the rough endoplasmic reticulum was dilated. The degree of thyroid pathological damage, mitochondrial and endoplasmic reticulum damage in all treatment groups was reduced, and the degree of reduction was the most obvious in the Modified Xiaoyao Powder group. ② ELISA showed that the serum levels of TgAb, TPOAb antibody, and serum levels of IL - 1β and IL - 18 in the model group were significantly higher than those in the blank group ($P < 0.01$), and the serum levels of TPOAb, TgAb antibody, IL - 1β and IL - 18 in each treatment group were reduced ($P < 0.01$, $P < 0.05$), especially in the Modified Xiaoyao Powder group. ③As shown by the expression level of pyroptosis - related proteins in each group by WB, the expression levels of NLRP3, GSDMD, Caspase - 1 and apoptosis - associated speck - like protein containing a CARD (ASC) protein in the thyroid tissue of rats increased significantly ($P < 0.01$), and the remaining treatment groups decreased significantly ($P < 0.01$, $P < 0.05$), with the decrease being the most obvious in the Modified Xiaoyao Powder group. *Conclusion* Modified Xiaoyao Powder alleviates the pathological damage of thyroid tissue, reduces the levels of TPOAb and TgAb antibodies, and inhibits the pyroptosis state, which may be related to the regulation of NLRP3/Caspase - 1/GSDMD signaling pathway.

**Keywords**: Modified Xiaoyao Powder (逍遥散加味); NLRP3/Caspase - 1/GSDMD pathway; pyroptosis; experimental autoimmune thyroiditis

桥本甲状腺炎(Hashimoto thyroiditis, HT)为自身免疫性甲状腺炎(Autoimmune thyroiditis, AIT)中最常见的类型,以甲状腺自身抗体升高及淋巴细胞浸润为其临床特点,可致甲状腺逐渐萎缩和纤维化,是青壮年甲状腺肿及后天获得性甲减最常见的病因[1]。流行病学调查显示,我国HT患病率为1.6%,女性患病率约为男性的4~10倍[2]。本病的发病机制现尚未明确,目前认为在遗传易感的基础上、在多种因素(如细菌或病毒感染、碘摄入过量等)的影响下引起免疫耐受丧失而诱发本病。细胞焦亡是以细胞肿胀、质膜破裂及释放内容物为特征并伴随炎症反应的新型细胞程序性死亡[3],经典途径为NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎症小体激活含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶1(Caspase - 1)诱导消皮素D(GSDMD)裂解使细胞膜破裂,释放炎性因子白细胞介素 - 1β(Interleukin - 1β, IL - 1β)、白细胞介素 - 18(Interleukin - 18, IL - 18),产生炎症反应,从而引起组织及器官的损伤[4]。"逍遥散加味"是导师张兰教授汲取古代医家智慧并结合数十年临床经验化裁经典古方"逍遥散"总结得出的有效治疗HT的中药复方。课题组前期大量临床试验及动物实验证实,本方可有效降低患者的血清甲状腺过氧化物酶抗体(Thyroid peroxidase antibody, TPO - Ab)、甲状腺球蛋白抗体(Thyroglobulin antibody, TgAb)抗体及炎症水平,并明显改善了患者的不适症状[5-8];降低EAT大鼠的抗体水平,减轻甲状腺炎症损伤,抑制TLRs/MyD88/NF - κB信号通路的异常表达,改善甲状腺细胞凋亡程度[9];调节T细胞亚群及相关细胞因子,调节免疫应答[10-11];调控SOCS1\3\JAK - STATS信号通路,改善大鼠甲状腺功能,提高甲状腺组织中SOCS1、SOCS3表达水平[12],但逍遥散加味是否可以调控NLRP3/Caspase - 1/GSDMD细胞焦亡信号通路目前尚不明确。本研究以EAT大鼠模型为研究对象,NLRP3/Caspase - 1/GSDMD细胞焦亡通路为切入点,探讨逍遥散加味治疗HT的作用机制。

## 1 材料

1.1 *动物* 辽宁长生生物技术股份有限公司购入体质量为(200 ± 20)g的SPF级雌性SD大鼠40只,于辽宁中医药大学动物实验中心饲养。许可证号:SCXK(辽)2020 - 0001,伦理批准号:21000042023121。

1.2 *药品、试剂及仪器* 逍遥散加味(江阴天江药业所提供柴胡、白芍、当归、党参等颗粒剂),硒酵母片(牡丹江灵泰药业,国药准字H10940161)。猪甲状腺球蛋白(PTG)、弗氏完全佐剂(Complete Freund's Adjuvant, CFA)、弗氏不完全佐剂(Incomplete Freund's Adjuvant, IFA)(SIGMA,货号:QA052105、F5506、F5881);无水碘化钠、PBS缓冲液(安徽酷尔,货号:AQ032244、PB114223);NLRP3、Caspase - 1、GSDMD、ASC抗体(ABclonal,货号:A5652、A0964、A24476、A1170);苏木素 - 伊红(HE)高清恒染试剂盒(Servicebio,货号:G1076);TgAb、TPOAb、IL - 1β、IL - 18酶联免疫吸附测定(Enzym - linkedimmunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海酶联,货号:ml003369、ml003044、ml028514、ml037378)。离心机(Thermo),正置光学显微镜(日本尼康),透射电子显微镜(hitachi),成像系统(日

本尼康),扫描仪(3DHISTECH),酶标仪(Thermo),电泳仪(北京六一)。

## 2 方法

2.1 分组、造模及给药 40 只 SD 大鼠进行 1 周的适应性喂养后随机分为空白组 10 只、造模组 30 只。造模组采用 0.5 g/L 高碘水喂养。第 4 周的第 1 天和第 4 天将 PTG、PBS 与 CFA 混合制成的乳化剂(0.2 mL/只)皮下多点注射;第 5 ~ 8 周,每周的第 1 天皮下多点注射由 PTG、PBS 与 IFA 混合制成的乳化剂 0.2 mL/只诱导构建 EAT 大鼠模型[13]。造模成功后将成模的大鼠随机分为模型组 10 只、逍遥散加味组 10 只、硒酵母组 10 只。根据《药理实验方法学》的给药剂量以人体的等效剂量进行换算[14],逍遥散加味组予 7.65 g/(kg · d)逍遥散加味溶液、硒酵母组予 36 μg/(kg · d)硒酵母片溶液灌胃,余两组予蒸馏水等体积灌胃,为期 8 周。各组大鼠均在恒定环境下饲养,保证动物自由饮水摄食。

2.2 取材 8 周灌胃完成后称量大鼠体质量,按照 30 mg · $kg^{-1}$体质量使用 1% 戊巴比妥钠做常规腹腔注射麻醉,取材前 12 h 禁食不禁水。大鼠深度麻醉后腹主动脉采全血 10 ~ 15 mL,于转速 3000 r/min 的离心机中分离血清,离心时间为 20 min,将离心后的血清冻存于 -80 ℃冰箱内备用。将取出的甲状腺组织分为两部分,一部分于 4% 多聚甲醛中固定,另一部分于 -80 ℃冰箱中冻存后续实验备用。

2.3 HE 染色观察 EAT 大鼠甲状腺组织形态结构 甲状腺组织投入组织固定液内固定,梯度酒精进行脱水、包埋制备石蜡切片。脱蜡后入高清恒染预处理液,处理后将切片入苏木素染液染色,分化反蓝。流水冲洗后入 95% 的酒精脱水,入伊红染液中染色,脱水,透明,中性树胶封片。光学显微镜下观察甲状腺组织形态和淋巴细胞的浸润情况。

2.4 透射电子显微镜下观察 EAT 大鼠甲状腺滤泡上皮细胞超微结构 甲状腺组织取 1 $mm^3$ 大小,投入电镜固定液中进行固定。经 PBS 缓冲液漂洗后,1% 锇酸避光室温固定 2 h,梯度酒精脱水、渗透、树脂包埋,制备 60 ~ 80 nm 超薄切片。醋酸铀饱和酒精溶液及枸橼酸铅溶液染色后,透射电子显微镜下观察大鼠甲状腺滤泡上皮细胞的超微结构。

2.5 ELISA 检测 EAT 大鼠血清 TPOAb、TgAb、IL - 1β、IL - 18 水平 离心后的大鼠血清运用 ELISA 法对 TPOAb、TgAb、IL - 1β、IL - 18 指标进行检测。铝箔袋中取出所需板条,设置标准品孔、样本孔及空白孔。标准品孔和样本孔中加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体,封板膜封孔,37 ℃水浴锅温育。重复洗板 5 次,加入底物、终止液,测 OD 值计算样本浓度。

2.6 Western Blot 检测 EAT 大鼠甲状腺组织细胞焦亡相关蛋白表达 甲状腺组织研磨后加入 RIPA 裂解液,匀浆提取总蛋白。经 BCA 蛋白检测试剂盒检测浓度后,蛋白变性,计算上样量。SDS - PAGE 电泳后转 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h。TBST 漂洗后加入 NLRP3、Caspase - 1、cleaved - Caspase - 1、GSDMD - N、ASC(1 ∶ 1000)一抗及内参 β - actin 抗体(1 ∶ 5000),4 ℃冰箱孵育过夜。次日加入二抗,室温孵育 1 h,PBST 洗涤。显影后凝胶成像系统观察,ImageJ 软件行灰度值分析。

2.7 统计学方法 数据的分析采用 GraphPad Prism 9.0.0 软件,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组组间的比较则用 one - way ANOVA Tukey 检验,$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 逍遥散加味对 EAT 大鼠甲状腺组织病理形态结构的影响 空白组大鼠甲状腺组织细胞结构完整,滤泡细胞形态规整、排列紧密,未见明显的淋巴细胞浸润;模型组大鼠甲状腺组织滤泡细胞结构破坏(黑色箭头部分),周围可见大量淋巴细胞浸润(红色箭头部分)。与模型组相比较,逍遥散加味组和硒酵母组的大鼠甲状腺病理损伤均较模型组程度减轻,逍遥散加味组减轻程度最明显。见插页Ⅷ图 1。

3.2 逍遥散加味对 EAT 大鼠甲状腺滤泡上皮细胞超微结构的影响 空白组的大鼠甲状腺滤泡上皮细胞,细胞膜结构可见;线粒体大多未见明显肿胀,膜完整,基质均匀,嵴清晰;粗面内质网未见明显扩张;模型组的大鼠甲状腺滤泡上皮细胞可见焦亡部分状态,细胞膜结构模糊、破损(红色箭头),线粒体明显肿胀,膜结构模糊、溶解,基质较多空化,嵴紊乱、消失;粗面内质网扩张;与模型组相比较,逍遥散加味组及硒酵母组的大鼠甲状腺滤泡上皮细胞未见明显焦亡状态,细胞膜结构均清晰,线粒体与内质网损伤程度均有减轻,逍遥散加味组的减轻程度更明显。见插页Ⅷ图 2。

3.3 逍遥散加味对 EAT 大鼠血清 TgAb、TPOAb 抗体水平的影响 与空白组相比较,模型组大鼠血清 TgAb、TPOAb 抗体水平均呈显著升高趋势($P < 0.01$);与模型组相比较,逍遥散加味组及硒酵母组大鼠血清 TgAb、TPOAb 抗体水平均呈显著降低趋势($P < 0.01$),逍遥散加味组大鼠血清 TgAb、TPOAb 抗体水平降低程度最明显($P < 0.01$,$P < 0.05$)。见表 1。

表 1 逍遥散加味对大鼠血清 TgAb、TPOAb 抗体水平的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | $n$ | TgAb/(ng/mL) | TPOAb/(U/mL) |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 10 | 100.27 ± 12.33 | 9.71 ± 1.19 |
| 模型组 | 10 | 253.49 ± 21.92** | 28.22 ± 2.29** |
| 逍遥散加味组 | 10 | 154.39 ± 16.23**## ▲ | 15.55 ± 2.72**## ▲▲ |
| 硒酵母组 | 10 | 170.77 ± 21.00**## | 19.34 ± 2.67**## |

注:**与空白组相比较,$P < 0.01$;##与模型组相比较,$P < 0.01$;▲▲与硒酵母组相比较,$P < 0.01$,▲与硒酵母组相比较,$P < 0.05$。

3.4 逍遥散加味对 EAT 大鼠血清 IL - 1β、IL - 18 水平的影响 与空白组相比较,模型组的大鼠血清 IL - 1β、IL - 18 水平均呈显著上升趋势($P < 0.01$)。与模型组相比较,逍遥散加味组、硒酵母组的大鼠血清 IL - 1β、IL - 18 水平均呈显著下降趋势($P < 0.01$,$P < 0.05$),逍遥散加味组降低程度最明显($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 逍遥散加味对大鼠血清 IL - 1β、IL - 18 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | $n$ | IL - 1β/(pg/mL) | IL - 18/(pg/mL) |
|---|---|---|---|
| 空白组 | 10 | 76.93 ± 5.28 | 98.72 ± 21.62 |
| 模型组 | 10 | 125.64 ± 9.94** | 241.23 ± 30.52** |
| 逍遥散加味组 | 10 | 96.02 ± 8.82**## | 168.42 ± 35.65**##▲ |
| 硒酵母组 | 10 | 97.11 ± 10.70**## | 202.99 ± 34.86**# |

注:**与空白组相比较,$P < 0.01$;##与模型组相比较,$P < 0.01$,#与模型组相比较,$P < 0.05$;▲与硒酵母组相比较,$P < 0.05$。

表 3 逍遥散加味对大鼠甲状腺组织细胞焦亡相关蛋白水平影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | NLRP3/β - actin | Cleaved - Caspase - 1/β - actin | GSDMD - N/β - actin | ASC/β - actin |
|---|---|---|---|---|
| 空白组 | 1.04 ± 0.03 | 0.86 ± 0.12 | 0.93 ± 0.12 | 0.95 ± 0.06 |
| 模型组 | 2.14 ± 0.06** | 1.73 ± 0.03** | 1.74 ± 0.01** | 2.12 ± 0.14** |
| 逍遥散加味组 | 1.34 ± 0.16*##▲ | 1.11 ± 0.10*## | 1.13 ± 0.16## | 1.23 ± 0.1 I*##▲ |
| 硒酵母组 | 1.68 ± 0.15**## | 1.29 ± 0.09**## | 1.29 ± 0.03**## | 1.53 ± 0.06**## |

注：**与空白组相比较，$P < 0.01$，*与空白组相比较，$P < 0.05$；##与模型组相比较，$P < 0.01$；▲与硒酵母组相比较，$P < 0.05$。

3.5 逍遥散加味对 EAT 大鼠甲状腺组织细胞焦亡相关蛋白水平的影响 与空白组相比较，模型组的大鼠甲状腺组织 NLRP3、Cleaved - Caspase - 1、GSDMD - N、ASC 蛋白的表达水平均呈显著增高趋势（$P < 0.01$）；与模型组相比较，逍遥散加味组及硒酵母组甲状腺组织 NLRP3、Cleaved - Caspase - 1、GSDMD - N、ASC 蛋白的表达水平均呈显著下降趋势（$P < 0.01$，$P < 0.05$），逍遥散加味组降低程度最明显（$P < 0.01$，$P < 0.05$）。见表 3、图 3。

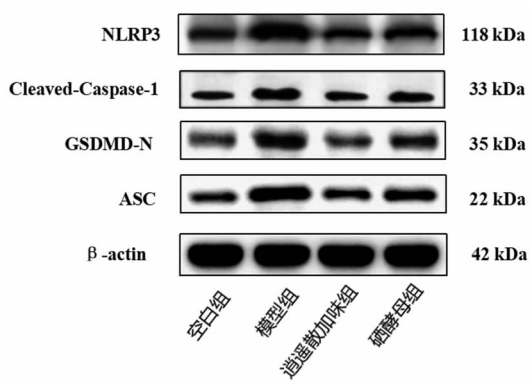



图 3 逍遥散加味对大鼠甲状腺组织细胞焦亡相关蛋白水平的影响

## 4 讨论

桥本氏甲状腺炎据病位及临床表现可归其为“瘿病”的范畴，其基本病机为肝失疏泄、脾失健运、肾气失司，肝脾肾三脏失调致气机阻滞、血行不畅、水液代谢障碍，气滞为瘀、凝而为痰，终致气、瘀、痰相搏于颈前而成瘿。逍遥散是调和肝脾的经典名方，广泛运用于甲状腺、自身免疫等多种疾病[15]。导师张兰教授长期临床观察发现，大多数 HT 患者具有周身乏力、腰膝酸软、记忆力减退、失眠多梦等肾气不足、髓海不充等症状，结合自己数十年的经验在“逍遥散”的基础之上补充完善益气补肾的中药，总结得出中药复方“逍遥散加味”。本方由柴胡、白芍、当归、党参、茯苓、白术、熟地、山茱萸等构成，旨在疏肝解郁、健脾益气、补肾固本，调和肝脾肾三脏气机、恢复自身免疫功能。柴胡、白芍、当归柔肝养血以涵养肝血、畅通气机；党参、茯苓、白术益气健脾，固护后天之本、扶助正气；熟地、山茱萸则平补肾气，滋先天之精、补养后天之体。现代药理研究表明该中药复方中多种化学成分，如柴胡皂苷[16]、白芍总苷[17]、当归多糖[18]、党参多糖[19]、马钱子苷[20]等成分均具有抗炎、调节免疫的作用。

细胞焦亡与 HT 的中医病机关系密切。从中医角度讲细胞焦亡属于气滞、痰凝、血瘀的病理范畴。炎症小体介导的细胞焦亡释放出大量的炎症因子，损伤人体正气，致使机体正气不足邪气内生，气血津液运行不畅，而致气滞、痰凝、血瘀，三者搏结于颈前，损伤甲状腺组织。

细胞焦亡是伴炎反应的新型细胞程序性死亡[21]，Caspase - 1 与 NLRP3 及 ASC 三者共同构成了 NLRP3 炎症小体[22]，是 GSDMD 活化的重要上游因子之一[23]，NLRP3 炎症小体激活 Caspase - 1 进而切割 GSDMD，致使细胞膜形成空洞，释放 IL - 1β 及 IL - 18 炎症因子，引起炎症反应[24]。研究表明 HT 的发生与细胞焦亡有着密切的联系，NLRP3、GSDMD、IL - 1β 蛋白表达水平在 HT 患者的甲状腺组织中显著升高[25-26]；AIT 患者血清及甲状腺滤上皮细胞中 IL - 18 均呈高表达[27]；NLRP3 炎症小体可通过 Caspase - 1 活化释放 IL - 1β、IL - 18 等炎症因子，影响 AIT 的疾病进程[28]；AIT 小鼠中 TPOAb、TgAb 抗体水平升高，甲状腺滤泡周围可见大量淋巴细胞浸润，甲状腺组织中 NLRP3、Caspase - 1、IL - 1β、IL - 18 mRNA 和蛋白表达显著增加，提示 AIT 小鼠存在细胞焦亡状态[29]；IL - 1β 参与了甲状腺滤泡上皮细胞异常增殖，破坏甲状腺组织，促进 HT 的疾病发展[30]。

TPOAb、TgAb 作为诊断 HT 的标志性抗体，具有很强的破坏自身免疫引发炎症的作用[31]。本实验中 EAT 大鼠模型组血清 TPOAb、TgAb 抗体较空白组显著升高；甲状腺组织滤泡细胞结构破坏，周围可见大量淋巴细胞浸润，提示 TPOAb、TgAb 抗体升高破坏甲状腺组织免疫，从而引发炎症反应。细胞肿胀、质膜破裂是细胞焦亡的典型特征[32]，模型组大鼠在透射电镜下可观察到甲状腺滤泡上皮细胞膜结构模糊、破损，线粒体明显肿胀，膜结构模糊、溶解，粗面内质网扩张等细胞焦亡表现；大鼠甲状腺组织 NLRP3、Cleaved - Caspase - 1、GSDMD - N、ASC 蛋白的表达及血清 IL - 1β、IL - 18 水平较空白组显著升高，提示 HT 状态下 NLRP3/Caspase - 1/GSDMD 信号通路被激活，印证了 HT 发生的情况下存在细胞焦亡状态。

故 TPOAb、TgAb 抗体升高引发的大鼠甲状腺组织炎症与 NLRP3 炎症小体诱发的细胞焦亡炎症相一致。上述研究证实，TPOAb、TgAb 抗体升高破坏自身免疫并激活 NLRP3 炎症小体，诱导 Caspase - 1 活化后切割 GSDMD，释放具有打孔效应的 GSDMD - N，进而破坏甲状腺滤泡上皮细胞膜，释放 IL - 1β 及 IL - 18 炎症因子介导细胞焦亡，引起甲状腺组织的剧烈炎症反应。

经逍遥散加味治疗后，大鼠血清 TPOAb、TgAb 抗体水平下降；被破坏的甲状腺组织结构得到改善，淋巴细胞浸润程度减轻；甲状腺滤泡上皮细胞膜破损的膜减少，线粒体与内质网损伤程度减轻；甲状腺组织 NLRP3、Cleaved - Caspase - 1、

GSDMD－N、ASC 蛋白的表达及血清 IL－1β、IL－18 水平均呈下降趋势，证明逍遥散加味具有良好的抗炎作用，能够通过降低 TPOAb、TgAb 抗体，减轻甲状腺组织炎症，改善甲状腺组织的破坏程度，降低 NLRP3 炎症小体水平，抑制 Caspase－1 活化，下调 GSDMD－N 水平，从而抑制细胞焦亡，保护甲状腺组织。因此，细胞焦亡可能是引起 HT 发病的分子机制之一。

综上，逍遥散加味可能通过抑制 NLRP3/Caspase－1/GSDMD 细胞焦亡信号通路，减轻机体的炎症反应，从而达到治疗 HT 的目的，这为逍遥散加味治疗 HT 的疗效机制提供了新的研究思路。

**参考文献**

[1] WEETMAN A P. The immunopathogenesis of chronic autoimmune thyroiditis one century after Hashimoto[J]. Eur Thyroid J, 2013, 1(4): 243－250.

[2] RAGUSA F, FALLAHI P, ELIA G, et al. Hashimotos' thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy[J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2019, 33(6): 101367.

[3] COOKSON B T, BRENNAN M A. Pro－inflammatory programmed cell death[J]. Trends Microbiol, 2001, 9(3): 113－114.

[4] GULDVOG I, REITSMA L C, JOHNSEN L, et al. Thyroidectomy versus medical management for euthyroid patients with Hashimoto disease and persisting symptoms: a randomized trial[J]. Ann Intern Med, 2019, 170(7): 453－464.

[5] 张兰，刘婧，李祎楠，等. 逍遥散加味治疗慢性淋巴细胞性甲状腺炎的临床研究[J]. 时珍国医国药，2022，33(9)：2182－2185.

[6] 吴丹. 加味逍遥散治疗桥本甲状腺炎肝郁脾虚证的疗效观察及对 IFN－γ，IL－2、6、10 的影响[D]. 沈阳：辽宁中医药大学，2023.

[7] 阎冠奇. 加味逍遥散加减治疗慢性淋巴细胞性甲状腺炎 76 例临床疗效观察[D]. 沈阳：辽宁中医药大学，2021.

[8] 李祎楠. 基于“神形统一观”探讨逍遥散加味治疗桥本病的临床疗效及机制研究[D]. 沈阳：辽宁中医药大学，2021.

[9] 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大鼠甲状腺细胞凋亡的影响[J]. 中成药，2019，41(4)：774－778.

[10] 许可. 基于“厝本相应论”探讨柴胡软坚消瘿颗粒对 HT 肝郁脾虚证的影响及机制研究[D]. 沈阳：辽宁中医药大学，2022.

[11] 王琳，张兰，许可，等. 软坚消瘿颗粒对实验性肝郁脾虚型桥本氏甲状腺炎模型大鼠 Th1/Th2 型细胞因子表达的影响[J]. 中华中医药学刊，2023，41(2)：226－230，276.

[12] 王琳，张兰，许可，等. 基于 SOCS13JAK－STATS 信号通路探讨软坚消瘿颗粒治疗肝郁脾虚型桥本甲状腺炎模型大鼠的实验研究[J]. 中华中医药学刊，2023，41(4)：251－254，301.

[13] 叶登美，王萍，陈京，等. 小鼠自身免疫性甲状腺炎模型构建[J]. 皖南医学院学报，2015，34(1)：10－12.

[14] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，1982：1535.

[15] 王哲，曹佳蕾，梁绿圆，等. 逍遥散的古今文献分析与关键信息考证[J]. 中国实验方剂学杂志，2025，31(15)：227－237.

[16] 高海洋，张金存，陈曦，等. 基于 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路探讨柴胡皂苷 B2 对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的影响[J]. 中成药，2024，46(6)：2053－2057.

[17] 许颖杰，王贤玲，牟文清，等. 基于 NLRP3 炎症小体探讨白芍总苷胶囊改善急性肺损伤的作用机制[J]. 中国中药杂志，2024，49(10)：2754.

[18] 阙松年，涂经典，韩尚峰，等. 当归多糖调控肠道菌群对脑缺血再灌注小鼠的影响[J]. 中国临床解剖学杂志，2024，42(3)：270－277.

[19] 肖凌，高春蕾，郭伟，等. 党参多糖通过调控 MAPK/NF－κB 信号通路对脂多糖诱导的急性肺损伤小鼠肺组织的保护作用[J]. 实用医学杂志，2024，40(7)：948－954.

[20] 傅超. 山茱萸活性成分马钱子苷对超负荷运动大鼠心肌细胞焦亡的保护作用[J]. 分子植物育种，2023，21(20)：6894－6900.

[21] 黄清宇，杜楚江，张雨竹，等. 细胞焦亡研究进展[J]. 中国免疫学杂志，2020，36(2)：245－250.

[22] LUČIŪNAITĖ A, MCMANUS R M, JANKUNEC M, et al. Soluble Aβ oligomers and protofibrils induce NLRP3 inflammasome activation in microglia[J]. J Neurochem, 2020, 155(6): 650－661.

[23] FENG S Y, FOX D, MAN S M. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death[J]. J Mol Biol, 2018, 430(18 Pt B): 3068－3080.

[24] LEE J, AHN E, KISSICK H T, et al. Reinvigorating exhausted T cells by blockade of the PD－1 pathway[J]. For Immunopathol Dis Therap, 2015, 6(1－2): 7－17.

[25] GUO Q L, WU Y, HOU Y Y, et al. Cytokine secretion and pyroptosis of thyroid follicular cells mediated by enhanced NLRP3, NLRP1, NLRC4, and AIM2 inflammasomes are associated with autoimmune thyroiditis[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1197.

[26] LIU J M, MAO C M, DONG L Y, et al. Excessive iodine promotes pyroptosis of thyroid follicular epithelial cells in Hashimoto's thyroiditis through the ROS－NF－κB－NLRP3 pathway[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 778.

[27] LIU Z, WANG H N, XIAO W H, et al. Thyrocyte interleukin－18 expression is up－regulated by interferon－γ and may contribute to thyroid destruction in Hashimoto's thyroiditis[J]. Int J Exp Pathol, 2010, 91(5): 420－425.

[28] 郭庆玲. 炎症小体在自身免疫甲状腺炎发病机制中的作用及机制研究[D]. 沈阳：中国医科大学，2018.

[29] 王智民，杨潇，陈怡然，等. 基于 NLRP3/Caspase－1/GSDMD 通路探讨补中益气汤干预 NOD.H－$2^{h4}$小鼠 AIT 细胞焦亡的机制[J]. 中国实验方剂学杂志，2024，30(12)：8－15.

[30] REBUFFAT S A, KAMMOUN－KRICHEN M, CHARFEDDINE I, et al. IL－1β and TSH disturb thyroid epithelium integrity in autoimmune thyroid diseases[J]. Immunobiology, 2013, 218(3): 285－291.

[31] 杨慧，庞新丰，袁新建，等. 桥本甲状腺炎患者血标本中相关生化指标变化及其与甲状腺功能的关系[J]. 中国临床医生杂志，2023，51(9)：1060－1063.

[32] BERGSBAKEN T, FINK S L, COOKSON B T. Pyroptosis: host cell death and inflammation[J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(2): 99－109.

# 基于 NLRP3/Caspase－1/GSDMD 通路探讨逍遥散加味对实验性自身免疫性甲状腺炎模型大鼠细胞焦亡的机制影响

（正文见 55－59 页）

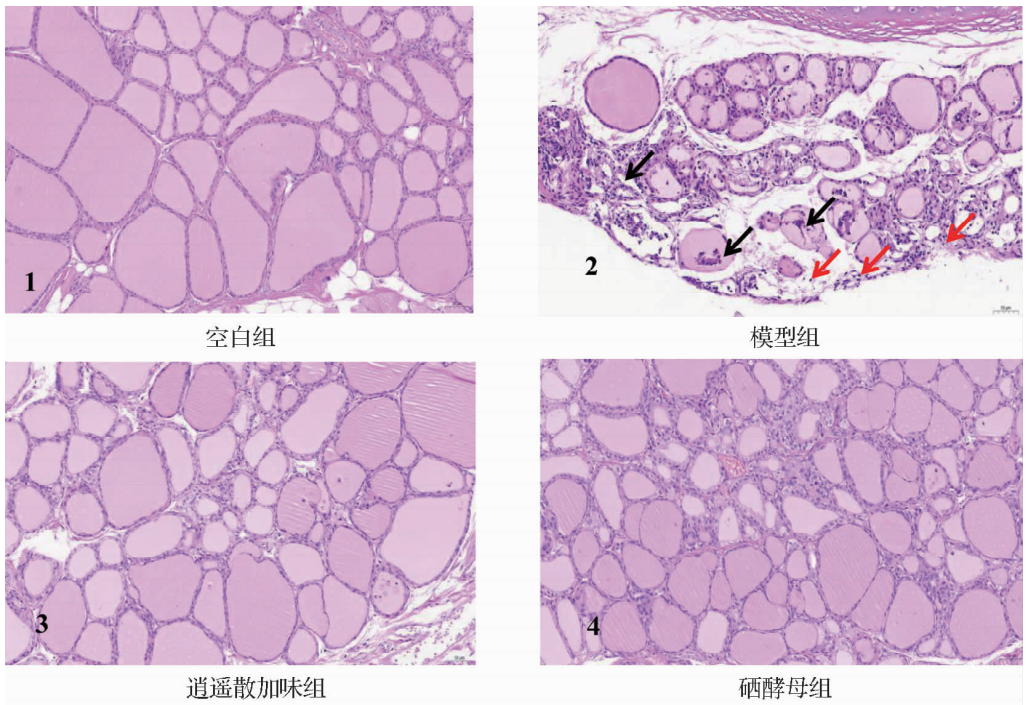



图 1　大鼠甲状腺组织病理形态（×200）

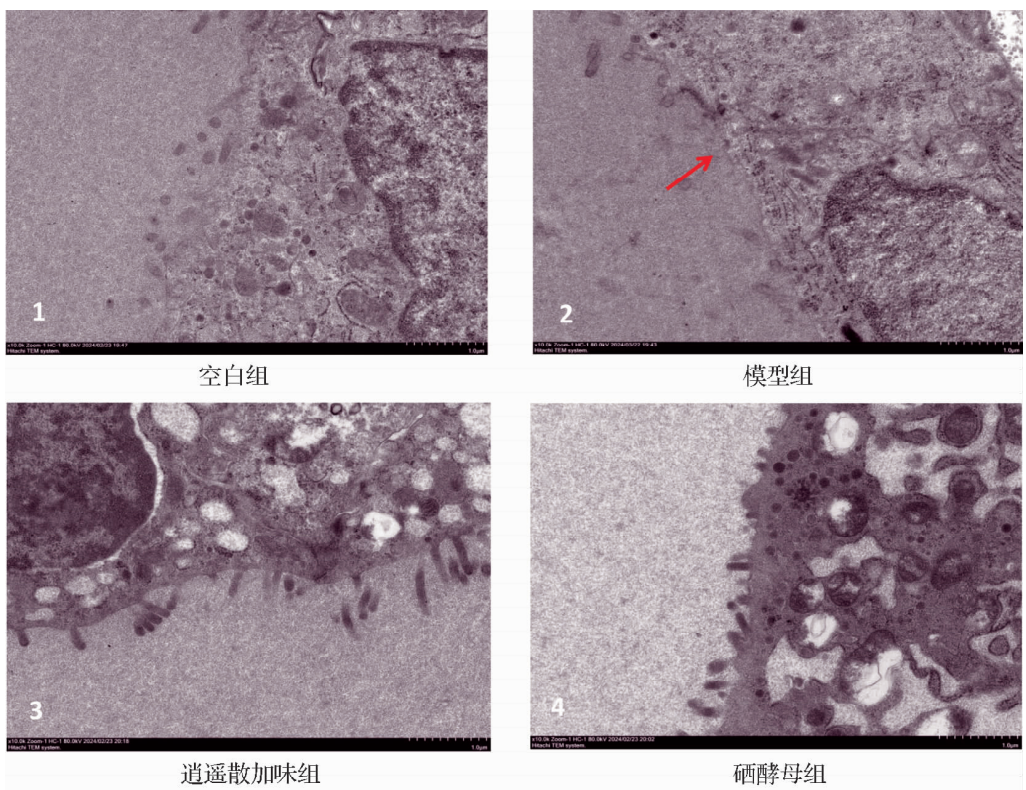



图 2　大鼠甲状腺滤泡上皮细胞焦亡状态（×10 000）