

不同碘摄入水平对小鼠甲状腺组织 I 型脱碘酶 基因表达及酶活性的影响 *

王 琨¹⁾ 孙毅娜²⁾ 刘嘉玉²⁾ 阎玉芹²⁾ 陈祖培^{2)**}

(¹⁾天津医科大学生物化学教研室, 天津 300070; ²⁾天津医科大学内分泌研究所, 天津 300070)

摘要 甲状腺功能与碘摄入水平有密切的关系, 甲状腺功能主要是通过其合成的甲状腺激素来实现的. 脱碘反应是调节甲状腺激素生物活性的重要方式, 不同碘营养状态下甲状腺组织 I 型脱碘酶(DI)基因表达及活性的变化是甲状腺功能调节的重要机制. 在成功建立碘缺乏与不同程度碘过量的 Babl/c 小鼠模型的基础上, 采用实时荧光定量 PCR 法检测甲状腺组织 DI mRNA 表达水平, 同时以 ¹²⁵I-rT₃ 作为底物, 结合离子交换层析技术测定甲状腺 DI 活性, 此外, 应用竞争结合放射免疫分析方法对甲状腺组织激素进行了检测. 结果显示: 碘缺乏时, DI mRNA 表达和 DI 活性均显著升高, 甲状腺组织内 T₃ 与 T₄ 水平均显著降低, 但 T₃/T₄ 明显升高; 碘过量可明显抑制 DI mRNA 表达, 但对 DI 活性并无显著影响, 甲状腺组织内 T₃/T₄ 有所下降. 上述结果提示, 甲状腺 I 型脱碘酶在甲状腺功能调节中具有重要的作用, 碘缺乏时 DI mRNA 表达及活性的上调可促进 T₄ 向 T₃ 的转化, 以满足机体代谢的需要, 而过量碘对 DI 基因表达的抑制可防止过多的 T₃ 对机体的损伤, 具有重要的生理意义.

关键词 I 型脱碘酶, 甲状腺激素, 基因表达, 甲状腺功能
学科分类号 R587.1

碘是甲状腺激素合成的必需原料, 甲状腺功能的正常发挥有赖于适当的碘摄入水平. 甲状腺功能主要是通过其合成的甲状腺激素来实现的, 甲状腺激素包括三碘甲腺原氨酸(3,5,3'-triiodo-L-thyronine, T₃)和四碘甲腺原氨酸(甲状腺素)(3,5,3',5'-tetraiodo-L-thyronine, thyroxine, T₄). 目前认为^[1,2], T₃ 是甲状腺激素的主要活性形式, 虽然 T₄ 是甲状腺合成的主要激素, 但 T₄ 通常被认为仅仅是激素原(prohormone), 其生物学活性远远低于 T₃. 对机体绝大多数组织而言, 血清中 T₄ 需首先经脱碘作用生成 T₃, T₃ 进入细胞后与细胞核内相应甲状腺激素受体结合, 作用于转录过程实现其对靶基因的正性/负性调控, 以调节机体的生长发育和代谢平衡.

碘与甲状腺功能变化的剂量-效应关系一直是国内外甲状腺研究领域关注的热点. 生理状态下, 甲状腺主要受到两种机制的调节, 即下丘脑-腺垂体-甲状腺轴的调节和甲状腺的自身调节^[3]. 当机体碘摄取量发生波动时, 甲状腺自身调节首先作为一线保护机制而启动, 它是为适应外界供碘量的增减, 调节甲状腺对碘的摄取和甲状腺激素的合成,

使甲状腺功能不至因供碘量的多少而发生剧烈变化. 甲状腺自身调节是多种因素参与的复杂的生理过程, 目前对其具体的调控机制尚不明确. 其中甲状腺 I 型脱碘酶(type I iodothyronine deiodinase, DI)基因表达及活性调节是甲状腺自身调节的重要方式, 它催化各种碘甲腺原氨酸衍生物的外环和内环脱碘^[4]. 由于甲状腺是合成 T₄ 的唯一器官, T₄ 经外环脱碘生成 T₃, 因此甲状腺组织 DI 的主要生理功能在于调节进入血清中 T₃ 的含量, 决定 T₄ 与 T₃ 以何种比例被释放入血. 本实验在成功建立碘缺乏与碘过量 Babl/c 小鼠模型的基础上, 观察其甲状腺组织 DI mRNA 的表达及 DI 活性的变化, 旨在为进一步探讨碘摄入水平对甲状腺功能的影响及其调节机制提供依据.

* 国家自然科学基金重点资助项目(30230330)和天津市科技发展计划项目(05YFGDSF02700).

** 通讯联系人.

Tel: 022-23340048, E-mail: zpchen@public.tpt.tj.cn

收稿日期: 2007-07-17, 接受日期: 2007-12-20

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选用断乳后一个月、体重在 16 g 左右的 Babl/c 小鼠(购自北京维通利华实验动物技术有限公司), 雌雄各半, 按体重、性别将动物随机分为 5 组: a. 低碘组(low iodine, LI), b. 适碘组(normal iodine, NI), c. 5 倍碘过量组 (five-fold iodine, 5HI), d. 10 倍碘过量组 (ten-fold iodine, 10HI), e. 50 倍碘过量组(fifty-fold iodine, 50HI). LI 组动物饲以低碘地区的粮食制成的饲料(平均碘含量为 20~40 $\mu\text{g/kg}$), 其他 4 组饲以正常鼠饲料(平均碘含量为 300 $\mu\text{g/kg}$), LI 组、NI 组饮用去离子水, 各 HI 组分别饮用含不同浓度 (1 568.2 $\mu\text{g/L}$ 、3 259.4 $\mu\text{g/L}$ 、19 215.7 $\mu\text{g/L}$)碘化钾的去离子水,

按小鼠每日进食 5 g、进水 5 ml 估计, 则每只小鼠每日的总摄碘量依次为 0.25 μg 、1.5 μg 、7.5 μg 、15 μg 、75 μg . 在饲养 3 月、6 月后, 分 2 批处死动物, 摘取甲状腺.

1.2 测定指标与方法

1.2.1 D1 基因 mRNA 水平的定量测定. 采用实时荧光定量 PCR 法, 主要操作步骤如下:

采用 Trizol 法提取甲状腺组织总 RNA, 经逆转录合成 cDNA 后(RNA 提取及逆转录试剂购自 Fermentas 公司), 进行 PCR 扩增. 目的片段 D1、GAPDH (作为外参照) 的引物应用软件 Gene Runner、并根据 GenBank 所发布的目的基因序列自行设计, 同时经 NCBI BLAST 检索无显著同源性. 引物由上海英骏生物技术公司(Invitrogen)合成, 具体引物序列和扩增片段长度见表 1.

Table 1 Primer sequences for target genes and length of PCR products

Name	Primer sequences	Length of PCR products
D1	Sense: 5' TCGTAGATGACTTTGCCTCCAC 3' Antisense: 5' CCGGATGTCCACGTTGTTC 3'	101 bp
GAPDH	Sense: 5' CATGGCCTTCCGTGTTCTTA 3' Antisense: 5' ATGCCTGCTTCACCACTTCT 3'	107 bp

将 PCR 产物纯化抽提后, 在 T4 DNA 连接酶 (Promega 公司)的作用下, 与 pGEM[®]-T easy Vector (Promega 公司)连接, 构建重组质粒. 将重组质粒转化至感受态 *E. coli* DH5 α 中, 在含有氨苄青霉素、X-gal、IPTG 的 LB 固体培养基中 37℃ 培养 20 h 后, 将平板置 4℃ 2 h, 使蓝色充分显现, 然后随机挑取白色菌落若干, 分别接种于含氨苄青霉素的 LB 液体培养基中, 37℃ 震荡培养 10 h. 终止培养后, 采用碱裂解法提取重组质粒 DNA, 并进行序列分析. 精确测定上述质粒 DNA 的浓度, 并计算质粒原液的拷贝数(copies/ μl), 将各重组质粒浓度统一稀释至 1×10^{12} copies/ μl , 分装后-20℃ 保存备用.

在进行实时荧光定量 PCR 时, 先精确稀释一系列标准质粒模板, 使其浓度分别为 0、10²、10⁴、10⁶、10⁸ 和 10¹⁰ copies/ μl , 然后分别以标准质粒和待测样品 cDNA 为模板, 相同条件下进行定量 PCR 扩增. 实时荧光定量 PCR 通过 ABI PRISM 7500 Real-Time PCR System(Applied Biosystems 公司)得以运行, 引物序列和扩增片段长度见表 1. 反应体系参照 SYBR[®] Premix Ex Taq[™](Perfect Real Time)试剂盒(TaKaRa 公司)说明书. PCR 循环参

数: 95℃ 预变性 10 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火及延伸 34 s, 进行 40 个循环. 温度变化速度为 3℃ /s, 在每个循环延伸阶段检测荧光信号, 进行实时监控, 最后进入解链阶段, 绘制产物的融解曲线, 以了解样品扩增的特异性, 保证测定结果的准确可靠.

经 7500 System Software 分析得到各样本的循环域值(Cycle Threshold, *C_t* 值), 以标准模板的 *C_t* 值和初始浓度的对数为横、纵坐标, 绘制标准曲线. 根据测得的待测样品 *C_t* 值即可计算出样品 cDNA 的绝对浓度(copies/ μl), 从而实现对待测样品基因 mRNA 水平的绝对定量. 同时, 以该样品的 GAPDH 起始拷贝数为外参照, 最终的比值即为样品待测基因 mRNA 水平. 每管样品重复测定 4 次, 得到 $\bar{x}\pm s$.

1.2.2 甲状腺组织 D1 活性的测定. 参照 Christine 等^[9]于 1996 年提出的方法加以改进. a. 取冻存的甲状腺组织约 30 mg, 按 1 : 20 加入预冷匀浆介质 (10 mmol/L pH7.0 HEPES 缓冲液, 1 mmol/L DTT, 320 mmol/L 蔗糖), 0~4℃ 匀浆后, 4℃ 离心 3000 g 10 min, 取上清用于 D1 活性测定. b. 将 100 μl 保温液(0.005 $\mu\text{mol/L}$ ¹²⁵I-rT₃(北京北方生物技

术研究所), 0.495 $\mu\text{mol/L}$ 5' L-rT3(Sigma 公司), 2 mmol/L DTT, 100 mmol/L pH7.0 磷酸钾缓冲液, 1 mmol/L EDTA)加入离心管中, 37 $^{\circ}\text{C}$ 保温 20 min. c. 每隔 30 s 依次向保温液中加入 20 μl 组织匀浆液, 待第一管准确反应 11 min 后, 每隔 30 s 依次加入 200 μl 冷终止液(10 $\mu\text{mol/L}$ T₄(Sigma 公司), 10 $\mu\text{mol/L}$ PTU). d. 将 256 μl 上述反应液加入预先接好收集管的离子交换层析柱中(内填充 Dowex-50w 离子交换树脂, 购自南开大学化工厂), 离心 1 500 r/min 10 min 后, 加入 0.5 ml 10%冰醋酸洗脱, 相同条件离心一次. e. 将收集的滤液经 γ 计数器(北京核仪器厂 FT-630 型)计数, 得到样品计数(SC). 同时每批设定一个对照管(以 20 μl 匀浆介质代替样品, 其余同)作为空白计数(BC), 并以 100 μl 保温液所得计数作为总计数(TC). f. BCA(二喹啉甲酸)法测定匀浆液中蛋白质含量(BCA Protein Assay Kit 购自 Pierce 公司). g. 按照下述公式计算样品中 D1 活性: D1 活性 = $[\text{SCc}(\text{cpm}) \times \text{SA}(\text{pmol}/\text{cpm}) \times 1\ 000] / [\text{样品体积}(\mu\text{l}) \times \text{蛋白质浓度}(\text{g/L}) \times \text{反应时间}(\text{min})]$. 其中, $\text{SCc} = \text{SC} - \text{BC}$, $\text{SA} = 100\ \mu\text{l}$ 保温液中 rT₃ 总含量(即 50 pmol)/TC,

D1 活性以每分钟每毫克蛋白质释放出 I⁻ 的 pmol 数表示.

1.2.3 甲状腺组织激素的测定. 甲状腺组织激素(T₃、T₄)水平的测定采用竞争结合放免分析(RIA)方法^[6]. (放免试剂盒购自北京北方生物技术研究).

1.3 统计学分析

所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件处理实验数据, 包括线性相关与回归分析, 组间比较采用方差分析, 进一步多重比较采用 LSD 分析. $P < 0.05$ 认为有统计学意义.

2 结 果

2.1 D1 基因 mRNA 水平的定量测定结果

D1 基因定量 PCR 的标准曲线和融解曲线见图 1, 可见不同浓度标准质粒模板线性关系很好, 相关系数达到 0.999 以上, 同时融解曲线中未见杂峰, 也未出现主峰的异常增宽, 提示, 目的序列扩增的特异性较高, 从而保证了测定结果的准确可靠.

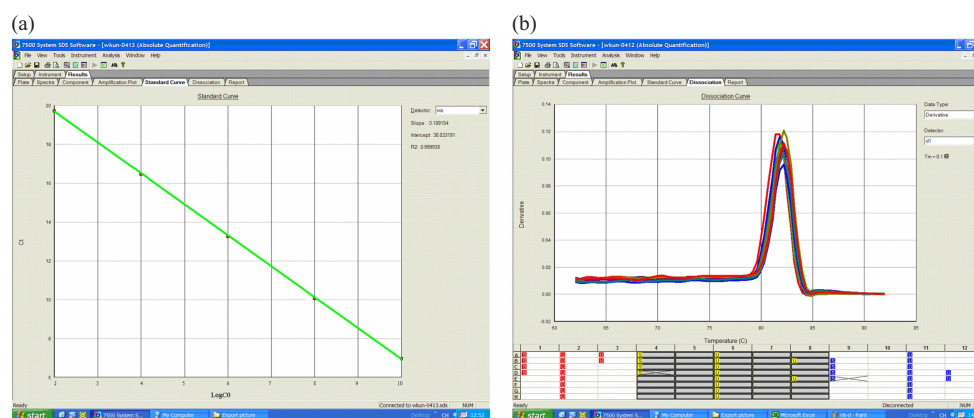


Fig. 1 The standard curve (a) and dissociation curve (b) of real-time fluorescent quantitative PCR of D1 gene

与 NI 组比较, 3 月龄及 6 月龄小鼠 LI 组 D1 mRNA 表达显著增高($P < 0.01$). 各 HI 组 D1 mRNA 表达水平总体呈下降趋势, 并随碘摄入量增加而逐渐减低. 在饲养 3 个月时各 HI 组与 NI 组比较并无显著差别, 6 月龄 5HI、50HI 组与 NI 组比较, 具有统计学差异($P < 0.05$) (表 2 和图 2).

2.2 甲状腺组织 D1 活性测定结果

与 NI 组相比, 各月龄小鼠 LI 组 D1 活性均显著升高($P < 0.01$). 各 HI 组 D1 活性与 NI 组比较并

无显著性改变(表 3 和图 3).

2.3 甲状腺组织激素的测定结果

如表 4 和图 4 所示, 各月龄 LI 组小鼠甲状腺组织 T₄ 和 T₃ 含量均显著低于同期 NI 组; T₃ / T₄ 较 NI 组明显升高. 各 HI 组在 3 月时随着碘摄入量增加其 T₄ 和 T₃ 含量均较 NI 组明显增高, 6 月时, 各高碘组 T₃ 水平接近正常, T₄ 仍有所升高, 但不如 3 个月时明显, 各 HI 组 T₃ / T₄ 较 NI 组有所降低, 但并无统计学差异.

Table 2 The expression of D1 mRNA in thyroid of mice with different iodine intakes

Groups	D1/GAPDH	
	3 fed months	6 fed months
LI	0.21 ± 0.07**	0.37 ± 0.0364**
NI	(2.88 ± 0.709) ×10 ⁻²	(7.07 ± 0.259) ×10 ⁻²
5HI	(4.10 ± 1.35) ×10 ⁻²	(3.28 ± 0.867) ×10 ⁻² *
10HI	(2.35 ± 0.843) ×10 ⁻²	(5.77 ± 1.60) ×10 ⁻²
50HI	(9.78 ± 2.75) ×10 ⁻³	(2.75 ± 0.444) ×10 ⁻² *

Compared with NI groups, **P* < 0.05, ***P* < 0.01, *n* = 5, $\bar{x} \pm s$.

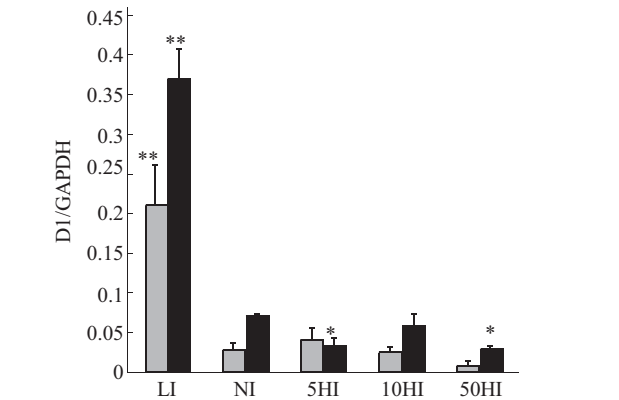


Fig. 2 The expression of D1 mRNA in thyroid of mice with different iodine intakes
Compared with NI groups, D1 mRNA expression level was greatly up-regulated in LI groups. And there was a tendency of decreasing in D1 mRNA expression in all HI groups compared with NI group. Significant difference was found in 5HI and 50HI at 6 months. **P* < 0.05, ***P* < 0.01 as compared with NI groups. □: 3 fed months; ■: 6 fed months.

Table 3 D1 activity in thyroid of mice with different iodine intakes

Groups	D1 activity /(pmol·mg ⁻¹ ·min ⁻¹)	
	3 fed months	6 fed months
LI	0.91 ± 0.17**	0.98 ± 0.32**
NI	0.07 ± 0.04	0.24 ± 0.07
5HI	0.08 ± 0.03	0.29 ± 0.08
10HI	0.10 ± 0.08	0.24 ± 0.06
50HI	0.09 ± 0.03	0.25 ± 0.10

Compared with NI groups, ***P* < 0.01, *n* = 6, $\bar{x} \pm s$.

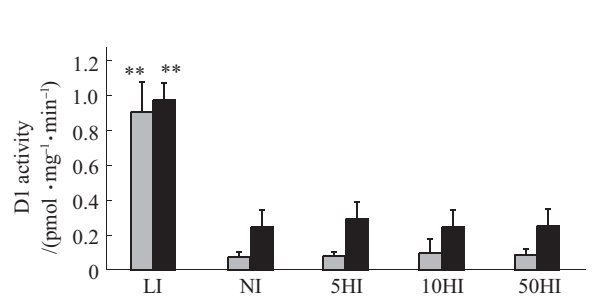


Fig. 3 D1 activity in thyroid of mice with different iodine intakes
Compared with NI groups, D1 activity was significantly increased in LI groups. While there was no significant differences between HI groups and NI groups. ***P* < 0.01 as compared with NI groups. □: 3 fed months; ■: 6 fed months.

Table 4 Thyroid tissue hormones in mice with different iodine intakes

								μg/g
Groups	<i>n</i>	3 fed months			<i>n</i>	6 fed months		
		T ₃	T ₄	T ₃ /T ₄		T ₃	T ₄	T ₃ /T ₄
LI	9	2.56 ± 1.68**	14.57 ± 17.83**	0.398 8 ± 0.294 4**	10	1.46 ± 0.24**	2.46 ± 1.49**	0.892 1 ± 0.569 9**
NI	9	70.40 ± 13.33	316.87 ± 64.35	0.232 6 ± 0.069 4	10	102.24 ± 31.92	477.32 ± 51.43	0.211 5 ± 0.051 0
5HI	10	103.10 ± 30.20*	624.60 ± 127.83**	0.164 5 ± 0.034 4	10	102.27 ± 26.46	600.98 ± 111.77**	0.168 9 ± 0.021 6
10HI	10	258.24 ± 57.51**	692.98 ± 128.19**	0.376 8 ± 0.081 8*	10	107.84 ± 28.02	659.85 ± 145.55**	0.163 1 ± 0.018 6
50HI	10	171.39 ± 27.37**	858.32 ± 159.10**	0.202 7 ± 0.028 9	10	124.48 ± 16.67*	742.02 ± 117.46**	0.169 0 ± 0.016 4

Compared with NI groups, **P* < 0.05, ***P* < 0.01, $\bar{x} \pm s$.

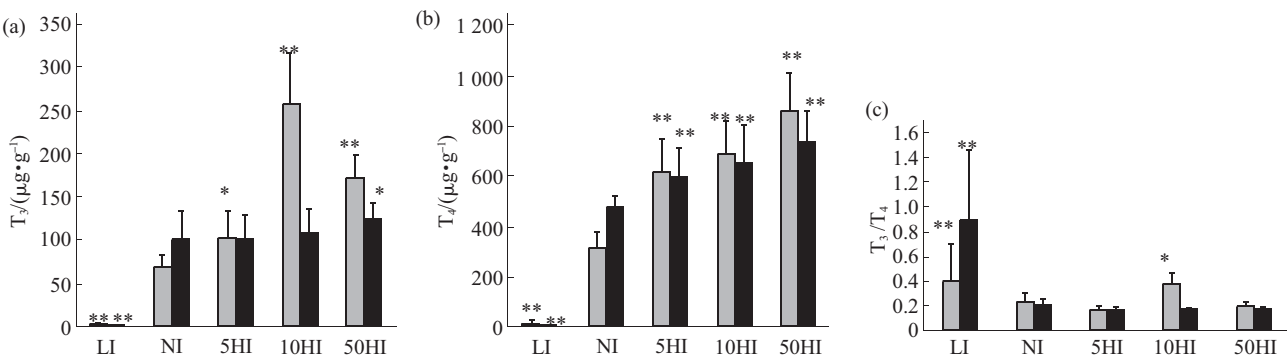


Fig. 4 Thyroid tissue hormones in mice with different iodine intakes
(a) Compared with NI groups, T₃ was greatly lower in LI groups in both 3 and 6 fed months. In HI groups T₃ was increased at 3 fed months and nearly had no significantly difference compared with NI group at 6 fed months. (b) Compared with NI groups, T₄ was greatly lower in LI groups and higher in HI groups in both 3 and 6 fed months. (c) Compared with NI groups, T₃ / T₄ was remarkably increased in LI groups and lightly decreased in HI groups (except for 10HI at 3 fed months). **P* < 0.05, ***P* < 0.01 as compared with NI groups. □: 3 fed months; ■: 6 fed months.

3 讨 论

脱碘反应是调节甲状腺激素生物活性的重要方式^[7]. 目前的研究表明, 体内主要存在 3 种形式的脱碘酶(D1, D2, D3), 它们均为含硒酶, 其活性中心均含有硒代半胱氨酸残基, 三者在不同环节、不同部位发挥脱碘作用^[8]. 其中 D1 主要分布于肝、肾和甲状腺, 它催化各种碘甲状腺原氨酸衍生物的外环和内环脱碘. 甲状腺合成的 T_4 与 T_3 以约 10:1~20:1 比例释放入血后, 在甲状腺外组织中, T_4 可经 D1 作用生成 T_3 , 这一作用约占每日 T_3 合成量的 75%~80%, 其余 20%~25% 的 T_3 是由甲状腺分泌的^[9,10], 而这之中大多数 T_3 是由 T_4 经甲状腺内 D1 作用生成, 仅有少量 T_3 是由甲状腺从头合成的^[11]. 因此 D1 在调节甲状腺激素代谢和甲状腺功能中发挥重要作用. 本实验研究了碘缺乏和不同程度碘过量 Babl/c 小鼠甲状腺组织 D1 mRNA 的表达和酶活性变化, 旨在为深入探讨不同碘营养状态下甲状腺功能的调节机制提供依据.

近年来国内外研究采用了多种不同方法测定 D1 活性^[12~14]. 本实验采用了 1996 年 Christine 等^[5]提出的方法并加以改进, 结果证实, 其操作简便, 敏感性高, 重复性好. 与传统方法比较, 它有如下优势: a. 以 $^{125}\text{I-rT}_3$ 为底物, 由于 D1 与 rT_3 的亲合力远远大于 T_4 ^[1], 因此本方法具有很高的敏感性, 同时避免了以 T_4 作为底物时甲状腺组织中的 rT_3 竞争性与 D1 结合对实验结果造成的影响. b. 以底物中释放出的游离 I 的放射性活性来计算 D1 活性, 应用离子交换层析技术从碘化甲状腺原氨酸中分离 I^- 已有许多成功的先例^[15,16]. c. 该方法组织用量极少, 特别适合于甲状腺等微小组织.

本研究结果显示, 不同碘摄入水平条件下甲状腺 D1 活性及 mRNA 表达的调节是甲状腺功能调节的重要手段. 碘缺乏时, D1 mRNA 表达显著上调($P < 0.01$), 同时 D1 活性明显升高($P < 0.01$), D1 基因表达及活性的增高可促进更多的 T_4 转变为 T_3 . 甲状腺组织激素的测定结果证实, 虽然 LI 组甲状腺组织内 T_4 和 T_3 含量均显著低于同期 NI 组, 但 T_3/T_4 比值明显高于 NI($P < 0.01$). 由于 T_3 的生物学活性远大于 T_4 , 且合成需要更少的 I^- , 因此机体优先合成 T_3 以适应碘供应不足是机体的一种重要代偿机制, 以生成更多的 T_3 满足大多数组织代谢的需要^[17].

另一方面, 在碘过量状态下, D1 mRNA 表达

呈下降趋势, 且随碘摄入量的增加而逐渐减低. 碘过量虽可抑制小鼠 D1 mRNA 表达, 但对 D1 活性并无显著影响. 甲状腺组织激素的测定结果显示, 碘过量时小鼠甲状腺组织内 T_3/T_4 较 NI 组呈现下降趋势. D1 mRNA 表达的下调是机体对碘过量的一种适应与代偿措施, 以保持高碘环境下甲状腺激素水平的稳定, 避免更多高生物活性的 T_3 对机体的损伤^[18,19].

值得指出的是, 我们曾对不同碘营养状态下 Wistar 大鼠甲状腺 D1 活性进行了测定, 结果表明^[20,21], 碘缺乏同样可显著促进大鼠 D1 活性的升高, 但与 Babl/c 小鼠不同的是, 碘过量可明显抑制 Wistar 大鼠甲状腺 D1 活性. 由于传统理论认为碘摄入水平对甲状腺功能的影响在不同的种属可能有所差异^[22], 相对于 Wistar 大鼠, Babl/c 小鼠对长期碘过量的适应和调节能力较弱, 因此结合本研究结果我们认为, 大鼠和小鼠甲状腺 D1 活性的差异可能是动物对过量碘表现出不同的适应和调节能力的分子机制之一. 但也有研究表明, 碘过量可使 Babl/c 小鼠 D1 活性明显降低^[23], 由于补碘前动物的碘营养状况、施加碘负荷的剂量和时间不同等因素对脱碘酶的活性具有一定影响, 相关研究尚有待于进一步深入.

综上所述, 不同碘摄入水平对甲状腺 D1 活性及 mRNA 表达均具有一定程度的影响, 同时可能还有其他因素参与了对 D1 基因表达的调控, 如细胞因子、性激素等^[24]. 各种因素相互作用, 维持适当的 D1 水平, 从而调节甲状腺激素的代谢^[25], 保持不同碘营养状态下甲状腺功能的稳定.

本研究从生化、分子生物学和营养学等方面对碘与甲状腺激素代谢进行了探讨, 揭示了脱碘反应在甲状腺激素代谢中的重要作用. 我们期待该研究能为有关碘营养状态与甲状腺功能的基础和临床研究提供依据.

参 考 文 献

- 1 Yen P M. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Phys Rev*, 2001, **81**(3): 1097~1142
- 2 Sandler B, Webb P, Apriletti J W, *et al.* Thyroxine-thyroid hormone receptor interactions. *J Biol Chem*, 2004, **279**(53): 55801~55808
- 3 Braverman L E, Roti E. Effects of iodine on thyroid function. *Acta Med Austriaca*, 1996, **23**(1~2): 4~9
- 4 Bianco A C, Salvatore D, Gereben B, *et al.* Biochemistry, cellular and molecular biology and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev*, 2002, **23**(1): 38~89
- 5 Christine S H, Bartholomeus B J E, Dennis W F. A method for the

- determination of type I iodothyronine deiodinase activity in liver and kidney using ^{125}I -labelled reverse triiodothyronine as a substrate. Clin Biochem, 1996, **29**(5): 451~456
- 6 Nowak G. Iodothyronine content in the pig thyroid gland. Comp Bioche Physiol, 1985, **80**(2): 183~186
 - 7 Bianco A C. Triplets! Unexpected structural similarity among the three enzymes that catalyze initiation and termination of thyroid hormone effects. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2004, **48**(1): 16~24
 - 8 Leonard J L, Simpson G, Leonard D M. Characterization of the protein dimerization domain responsible for assembly of functional selenodeiodinases. J Biol Chem, 2005, **280**(12):11093~11100
 - 9 Wassen F W J S, Klootwijk W, Kaptein E, *et al.* Characteristics and thyroid state dependent regulation of iodothyronine deiodinase in pigs. Endocrinology, 2004, **145**(9): 4251~4263
 - 10 Nguyen T T, Chapa F, DiStefano III J J. Direct measurement of the contributions of type I and type II 5' deiodinases to whole body steady state 3, 5, 3' triiodothyronine production from thyroxine in the rat. Endocrinology, 1998, **139**(11): 4626~4633
 - 11 Chopra L J, Sabatino L. Nature and sources of circulating thyroid hormones. In: Braverman LE, Utiger RD, eds. Werner and Ingbar's The Thyroid, A Fundamental and Clinical Text. 8th. Philadelphia: Lippincott, 2000. 121~135
 - 12 Beckett G J, Nicol F, Rae P W H. Effects of combined iodine and selenium deficiency on thyroid hormone metabolism in rats. Am J Clin Nutr Suppl, 1993, **57**: 240S~243S
 - 13 Behne D, Dyriakopoulos A, Gessner H. Type I iodothyronine deiodinase activity after high selenium intake, and relations between selenium and iodine metabolism in rats. J Nutr, 1992, **122** (7): 1542~1546
 - 14 左爱军, 梁东春, 赵学勤, 等. 不同碘营养状态对大鼠肝组织 I 型 5' 脱碘酶的影响. 中国地方病学杂志, 2006, **25**(3): 243~246
Zuo A J, Liang D C, Zhao X Q, *et al.* Chinese Journal of Endemiology, 2006, **25**(3): 243~246
 - 15 Vadhanavikit S, Ganther H E. Selenium requirements of rats for normal hepatic and thyroidal 5' deiodinase (type I) activities. J Nutr, 1993, **123**(6):1124~1128
 - 16 Olin K L, Walter R M, Keen C L. Copper deficiency affects selenogluthathione peroxidase and selenodeiodinase activities and antioxidant defense in weanling rats. Am J Clin Nutr, 1994, **59**(3): 654~658
 - 17 Hetzel B S. The nature and magnitude of the iodine deficiency disorders. In: Hetzel B S, ed. Towards the Global Elimination of Brain Damage Due to Iodine Deficiency. England: Oxford University Press, 2004. 1~20
 - 18 Roti E, Braverman L E. Iodine excess and thyroid function. In: Nauman J, Glinoe D, Braverman LE, eds. The Thyroid and Iodine. New York: Schattauer, 1996. 5~15
 - 19 Toti E, Uberti E D. Iodine excess and hyperthyroidism. Thyroid, 2001, **11**(5): 493
 - 20 Wang K, Sun Y N, Liu J Y, *et al.* Type I iodothyronine deiodinase activity and mRNA expression in rat thyroid tissue with different iodine intakes. Chin Medi J, 2006, **119**(22):1899~1903
 - 21 王琨, 孙毅娜, 刘嘉玉, 等. 不同碘营养对大鼠甲状腺 I 型脱碘酶活性及 mRNA 水平的影响. 营养学报, 2006, **28**(5): 391~393
Wang K, Sun Y N, Liu J Y, *et al.* Acta Nutrimenta Sinica, 2006, **28** (5): 391~393
 - 22 陈祖培, 阎玉芹, 项建梅, 等. 碘缺乏和碘过量大鼠动物模型的复制及其碘代谢的对比观察. 中国地方病杂志, 2005, **24**(3): 242~244
Chen Z P, Yan Y Q, Xiang J M, *et al.* Chinese Journal of Endemiology, 2005, **24**(3): 242~244
 - 23 徐健, 杨雪锋, 郭怀兰, 等. 碘对小鼠过量碘性 I 型脱碘酶损伤的干预作用研究. 卫生研究, 2007, **36**(5): 552~555
Xu J, Yang X F, Guo H L, *et al.* Journal of Hygiene Research, 2007, **36**(5): 552~555
 - 24 Zavacki A M, Ying H, Christoffolete M A, *et al.* Type I iodothyronine deiodinase is a sensitive marker of peripheral thyroid status in the mouse. Endocrinology, 2004, **146**(3):1568~1575
 - 25 Koenig R J. Regulation of type I iodothyronine deiodinase in health and disease. Thyroid, 2005, **15**(8):835~840

The Impact of Different Iodine Intakes on Type I Iodothyronine Deiodinase Activity and mRNA Expression in Mouse Thyroid Tissue*

WANG Kun¹⁾, SUN Yi-Na²⁾, LIU Jia-Yu²⁾, YAN Yu-Qin²⁾, CHEN Zu-Pei^{2)**}

¹⁾ Department of Biochemistry, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China;

²⁾ Endocrinology Institute, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Thyroid function ultimately depends on appropriate iodine supply to the gland. Thyroid hormone deiodination is an intrinsic component of the thyroid hormone homeostasis. Type I iodothyronine deiodinase (D1) plays an important role in thyroid hormone metabolism and has close relationship with thyroid function. Based on successfully establishing animal models of iodine deficiency and iodine excess in Babl/c mice (Babl/c mice were randomly divided into five groups: low iodine (LI), normal iodine (NI), five-fold iodine (5HI), ten-fold iodine (10HI) and fifty-fold iodine (50HI) group. Three months and six months after administration, they were sacrificed and thyroids were excised), the expression level of D1 mRNA were examined by using real time quantitative PCR method. D1 activity was analyzed by $^{125}\text{I-rT}_3$ as substrate combined with ion-exchange chromatography. The thyroid hormone was measured with radioimmunoassay method. The data revealed that in the case of iodine deficiency, both D1 mRNA expression and D1 activity was greatly increased (compared with NI groups, $P < 0.01$). T_3 and T_4 in thyroid tissue was significantly decreased, but T_3 / T_4 was increased ($P < 0.01$). On the other hand, when faced to iodine excess, D1 mRNA expression was reduced (There was a tendency of decreasing in D1 mRNA expression in all HI groups compared with NI group, significant difference was found in 5HI and 50HI at 6 months), while there was no remarkable effect on D1 activity. The thyroid hormone assay showed that T_3 / T_4 was decreased. In conclusion, D1 is a critical factor in the regulation mechanism of thyroid function. The up-regulated mRNA expression and activity under the state of iodine deficiency will improve the conversion of T_4 to T_3 to maintain the normal thyroid function. The inhibition of D1 expression induced by iodine excess may be taken as an effective way to protect organism from impairment caused by too much T_3 .

Key words type I iodothyronine deiodinase, thyroid hormone, gene expression, thyroid function

*This work was supported by grants from The National Nature Science Foundation of China (30230330) and Tianjin Technology Development Project (05YFGDSF02700).

**Corresponding author. Tel: 86-22-23340048, E-mail: zpchen@public.tpt.tj.cn

Received: July 17, 2007 Accepted: December 20, 2007