

AChR 胸腺中异位表达异常导致 MG 发病的研究

王 田 张 莹

【中图分类号】 R746.1 【文献标识码】 A 【文章编号】 1007-0478(2015)04-0253-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2015.04.019

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是一种自身免疫性疾病,由抗体介导,主要攻击神经肌肉接头处的乙酰胆碱受体,引起全身骨骼肌无力和易疲劳。经研究分析,胸腺内的免疫耐受异常在发病机制中占重要作用,本研究将讨论在重症肌无力发病中胸腺内的自身免疫反应以及编码乙酰胆碱自身抗原 α 亚基的基因——CHRNA1 基因位点多态性在重症肌无力发病机制中的相关作用。

1 重症肌无力——抗体介导的自身免疫性疾病

重症肌无力是一种神经肌肉接头处的获得性自身免疫性疾病,特征是部分或全身骨骼肌无力和极易疲劳^[1,2],这种肌肉无力主要是由于突触后膜上的神经递质受体,即乙酰胆碱受体(acetylcholine receptor, AChR)数量减少,从而引起神经肌肉传递功能障碍,由 AChR 的自身抗体 IgG 介导,这

些自身抗体具有高度特异性,而且在患者血清中发现这种自身抗体可以作为疾病的诊断依据^[3]。MG 是一种多因素影响的疾病,它是由多基因型和环境因素之间复杂的相互作用引起的^[4]。

在 MG 患者的分析中可以看到存在个体差异,包括发病年龄、临床表现、胸腺病理学等多个方面,从而引起了 MG 的表型多相性^[1]。发病年龄中 <40 岁的早发型重症肌无力(early-onset MG, EOMG)发病和 >40 岁的晚发型重症肌无力(late-onset MG, LOMG)发病都与性别有很大关系,而且通过这个构成了 MG 人群分型的重要标准;另外一个是指胸腺的组织病理学,主要指胸腺瘤或者胸腺增生。在 EOMG 组中以女性占主导为特征,而且通常伴胸腺增生,而 LOMG 表现出一种男性偏倚,大多数胸腺正常或萎缩^[4]。另外,在临床症状上患者表现也都不尽相同^[5],MG 可以引起短暂的或者持续的肌肉无力或易疲劳,症状可累及部分或全身骨骼肌,85%的患者首发症状是眼肌无力,伴眼睑下垂及复视,或者是视物模糊;在其他的患者中首发症状大多数是其他部位肌肉无力,引起构音障碍、吞咽困难或呼吸无力等,但这些症状上的差异与性别无关。在临床上症状的严重度、疾病进展

基金项目:哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(青年后备人才)资助编号为(2014RFQGJ006)

作者单位:150086 哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科二病房[王 田 张 莹(通信作者)]

速度以及对不同治疗的反应都使这个疾病更加复杂。

2 胸腺中免疫耐受和自身免疫的关系

胸腺中组织特异性自身抗原的异位基因表达诱导 T 细胞耐受,使机体免于自身免疫性疾病,这种自身抗原的异位基因表达主要发生在胸腺髓质上皮细胞,部分由自身免疫调节因子(autoimmune regulator, AIRE)调控^[1-6]。因此,针对于在机体内广泛表达的蛋白以及血循环中存在的自身抗原,胸腺被认为是诱导出自身免疫耐受的主要部位,而研究发现这种异位基因表达更倾向于是胸腺的一种自身特性,而不是由周围组织特异性的调控而产生的^[7]。人体在出生后体内就一直在产生 T 细胞介导免疫反应,随着年龄的增长,胸腺内 T 细胞的数量在不断下降,但是始终存在,因此我们可以看出胸腺内 T 细胞一直在产生并且在自身免疫和免疫耐受的调节中发挥作用,而且在 T 细胞产生的过程中组织特异性抗原的表达也一直存在,它们之间相互作用,维护人体免疫系统的一个稳态。

胸腺中通过阳性选择和阴性选择来调控 T 细胞的产生并输出到胸腺外的组织中^[8-9]。胸腺细胞中对自身抗原表现为低敏感性的 T 细胞,作为阳性选择的结果,被输出到周围淋巴组织中,以识别外源性抗原,维护自身的正常免疫反应。而那些对自身抗原有着高亲和力的 T 细胞,通过特异性 CD4 + T 细胞及其他细胞因子的协同作用,都产生了细胞凋亡或者细胞失活,这即为胸腺内的阴性选择结果。然而,这种中枢性的阴性选择并不完全,尽管在胸腺髓质上皮细胞中包含范围较广的自身抗原异位基因表达,仍有较小一部分的自身反应性 T 细胞从胸腺逃离出来,从而限制了胸腺免疫耐受的效能,但它们有些一直处于一种未被激活的状态,因为在外周组织中它们从未遇到过自身抗原,未能引发免疫反应,或者调节性 T 细胞抑制了它们的免疫学作用。

3 胸腺内的自身免疫反应诱发 MG 发病

一般认为胸腺不是免疫激活的场所,但几乎所有的 MG 患者都有胸腺异常,并且在增生的胸腺中 B 细胞可产生抗 AChR 抗体,T 细胞可与 AChR 反应,故我们考虑胸腺可能是诱发免疫反应的起始部位。有研究证据显示,周围免疫激活的 T 细胞有一小部分回到胸腺髓质^[1],当自身反应性 T 细胞回到胸腺中遇到抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)上表达的自身性抗原 AChR, T 细胞被激活表达免疫反应,从而促进局部反应性 B 细胞激活,产生相应的自身抗体,即抗 AChR 抗体,这些抗体可随淋巴系统循环流出胸腺,通过体循环与神经肌肉突触后膜的 AChR 发生反应,从而引起 MG 发病。

3.1 AChR 在胸腺“肌样细胞”中表达

与 MG 发病机制相关的一个重要的方面,就是胸腺中 AChR 的表达,这个学说吸引了大批学者的关注,因为在调控 T 细胞的方面 胸腺内自身抗原表达起了重要作用。另

外,胸腺细胞中 AChR 的表达也更好地描述了胸腺中组织特异性自身抗原的异位基因表达诱导 T 细胞耐受^[10]。胸腺在启动重症肌无力自身免疫反应中起到了重要作用,而胸腺内 AChR 的 α 亚基是被大家研究最多的一个成分,因为这个亚基包含了疾病相关 B 细胞和 T 细胞的抗原表位, α 亚基存在于多种胸腺细胞中^[1],包括上皮细胞、胸腺细胞、肌样细胞,而肌样细胞被证实为胸腺中表达 AChR 的主要细胞。

3.2 CHRNA1 基因调控 AChR α 亚基的表达

肌肉乙酰胆碱受体(AChR)位于神经-肌肉接头的突触后膜上,这种受体是一种横跨膜的分子复合体,作为一种离子通道而起作用,胎儿中 AChR 为 $\alpha 2\beta\gamma\delta$ 聚合体,成人中为 $\alpha 2\beta\epsilon\delta$ 聚合体^[11]。考虑到 AChR 具有较强的免疫原性,而且在重症肌无力中致病性自身抗体攻击的主要目标为其 α 亚基^[12],通过研究发现编码 AChR 的 α 亚基的基因——CHRNA1。通过对 CHRNA1 基因重测序发现,在其启动子上有一个有功能的双等位基因变异体,这个变异体阻止干扰素调控因子 8 (IRF8) 的粘附,同时阻止胸腺上皮细胞中 CHRNA1 基因启动子的功能。为了更好地理解基因变异体、胸腺自身抗原的表达以及自身免疫耐受之间的关系,我们对 CHRNA1 位点的多态性做了一个较全面的文献复习,发现有 70 多种变异体存在,其中有一个重要的单核苷酸多态性位点(SNPs),即 rs16862847 位点^[6],即为现阶段研究的重点。rs16862847 位点位于翻译启动子上游 478 个核苷酸处,潜在性地影响 AChR 的表达,在其位点上有 A、G 两种等位基因存在,可组成 AA、AG、GG 三种基因型,A 等位基因促进与 IRF8 的结合,从而促进 CHRNA1 基因的表达,使得在胸腺中 AChR 自身抗原正常表达,形成免疫耐受,使 AChR 在外周组织中免受自身抗体的攻击;同时它的 G 等位基因干扰了独特的干扰素刺激效应中与 IRF8 的结合,以前叫做干扰素共有序列结合蛋白(ICSBP),这个转录因子与干扰素信号传导有关,同时调控它们的表达。一项法国的 MG 基因型研究显示在 rs16862847 位点上 G 等位基因频率与发病呈正相关,证实了 rs16862847 位点与 MG 发病间的关系。

4 MG 受其他多种因素调控

重症肌无力是一种由多因素参与的疾病,因此除了上面所说的 CHRNA1 基因位点多态性调控 MG 发病外,还存在其他多种因素共同参与。1970 年人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)是第一个被证实的与大多自身免疫疾病相关的异位基因表达基因区域,本研究也发现 HLA 多个位点^[13]与 MG 的多种表型都息息相关,但是由于 HLA 这个区域存在大量的多态性基因并且与免疫功能相关,所以与疾病易感性相关的确切基因位点的识别尚需进一步证实。突触后膜的跨膜蛋白——酪氨酸激酶(muscle-specific tyrosine kinase, MuSK)主要表达在神经肌肉接头处^[14-15],作为神经肌肉信号传导过程中的受体之一,在一部分 MG 患者中被认为其是主要的自身抗原,临床上大约有 20% 的 MG 患者无

抗 AChR 抗体,我们称之为血清反应阴性的 MG,在这些 MG 患者中(31%—41%)可以发现抗 MuSK 抗体的存在,它可以诱导出重症肌无力的症状来。自身免疫调节因子(autoimmune regulator,AIRE)在免疫耐受形成过程中通过促进胸腺内组织特异性自身抗原的表达^[16~18]来消除自身反应性 T 细胞,使机体免于自身免疫反应。在重症肌无力的发病机制中 AIRE 可以影响 CHRNA1 基因的表达,因此可以看出 AIRE 和 CHRNA1 启动子变异体双重调控 CHRNA1 基因在人类胸腺髓质上皮细胞中信使 RNA 的水平^[6],从而调控胸腺内 AChR 自身抗原的表达,提示它们一起设立了免疫耐受和自身免疫的相互作用,人类胸腺中 AIRE 的缺乏是引起 MG 发病的一个重要因素。与 MG 发病相关的因素还有很多,在这里只是列举了一些有代表性的且已被证实的,其他有关因子的发现尚需通过更多的实验来验证。

5 结束语

重症肌无力是一种自身免疫性疾病,同其他的免疫性疾病一样,它的起病以及疾病过程中的各种临床表现都受多种因素调控,包括基因型和环境因素的共同作用,这些复杂的发病机制引起免疫系统异常,从而产生了一种与重症肌无力相关自身抗原的免疫反应。通过 MG 相关基因学研究发现了 CHRNA1 位点,它编码 AChR 的 α 亚基,CHRNA1 基因位点的启动子变异体与 MG 的发病存在很大关联,A 等位基因促进 CHRNA1 的表达,而 G 等位基因抑制 CHRNA1 的表达,阻碍 AChR 自身抗原表达,影响其在胸腺内形成免疫耐受,从而产生抗 AChR 自身抗体,使神经肌肉接头处的传递受阻,引起肌肉无力,导致重症肌无力发病。与此同时,我们也发现其他的多种细胞因子等共同参与 MG 发病,这些都使我们对 MG 这种免疫性疾病的了解更加深入,但由于重症肌无力这种自身免疫病发病机制的复杂性,关于它的基因学分析仍需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Levinson AI, Song D, Gaulton G, et al. The intrathymic pathogenesis of myasthenia gravis. *Clin Immunol*, 2004, 11(3/4): 215-220.
- 2 Garchon HJ. Genetics of autoimmune myasthenia gravis, a model for antibody-mediated autoimmunity in man. *J Autoimmun*, 2003, 21(2):105-110.
- 3 Vincent A. Unravelling the pathogenesis of myasthenia gravis. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(10):797-804.

- 4 Zshotiyi Z, Kambouris ME, Patrinos GP, et al. Recent advances in genetic predisposition of myasthenia gravis. *Biomed Res Int*, 2013, 13(10):1-9.
- 5 Grob D, Brunner N, Namba T, et al. Lifetime course of myasthenia gravis. *Muscle Nerve*, 2008, 37(2):141-149.
- 6 Giraud M, Taubert R, Vandiedonck C, et al. An IRF8-binding promoter variant and AIRE control CHRNA1 promiscuous expression in thymus. *Nature*, 2007, 448(7156):934-937.
- 7 Derbinski J, Schulte A, Kyewski B, et al. Promiscuous gene expression in medullary thymic epithelial cells mirrors the peripheral self. *Nat Immunol*, 2001, 2(11):1032-1039.
- 8 Takahama Y. Journey through the thymus: stromal guides for T-cell development and selection. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(2):127-135.
- 9 Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. Positive and negative selection of T cells. *Annu Rev Immunol*, 2003, 21(10):139-176.
- 10 Sheng JR, Li LC, Prabhakar BS, et al. Acetylcholine receptor α subunit expression in myasthenia gravis: a role for the autoantigen in pathogenesis. *Muscle Nerve*, 2009, 40(2):279-286.
- 11 Heckmann JM, Morrison KE, Emeryk-Szajewska B, et al. Human muscle acetylcholine receptor alpha-subunit gene (CHRNA1) association with autoimmune myasthenia gravis in black, mixed-ancestry and caucasian subjects. *J Autoimmun*, 1996, 9(2):175-180.
- 12 蒋建明. 重症肌无力的研究历程与现状. *中国神经科学杂志*, 2002, 18(1):473-475.
- 13 Djabrii F, Caillat-Zucman S, Gajdos P, et al. Association of the AChR α -subunit gene (CHRNA), DQA1 * 0101, and the DR3 haplotype in myasthenia gravis. Evidence for a three-gene disease model in a subgroup of patients. *J Autoimmun*, 1997, 10(4): 407-413.
- 14 Conti-Fine BM, Milani M, Kaminski HJ. Myasthenia gravis: past, present, and future. *J CLIN INVEST*, 2006, 116(11): 2843-2852.
- 15 Gomez AM, Van Den Broeck J, Vrolix K, et al. Antibody effector mechanisms in myasthenia gravis-pathogenesis at the neuromuscular junction. *Autoimmunity*, 2010, 43(5-6):353-370.
- 16 Scarpino S, Di Napoli A, Stoppacciaro A, et al. Expression of autoimmune regulator gene (AIRE) and T regulatory cells in human thymomas. *Clin Exp Immunol*, 2007, 149(3):504-512.
- 17 Aricha R, Feferman T, Scott HS, et al. The susceptibility of Aire (-/-) mice to experimental myasthenia gravis involves alterations in regulatory T cells. *J Autoimmun*, 2011, 36(1):16-24.
- 18 Heino M, Peterson P, Kudoh J, et al. Autoimmune regulator is expressed in the cells regulating immune tolerance in thymus medulla. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257(3):821-825.

(2015-02-06 收稿)