

# 重症肌无力病因、发病机制、分子靶向治疗研究进展

莫建议

【中图分类号】 R746.1    【文献标识码】 A    【文章编号】 1007-0478(2017)03-0262-04  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.03.027

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是一种主要由抗体介导且累及神经肌肉接头的自身免疫疾病,该病自发缓解率低,治疗主要以免疫抑制及清除抗体为主。近年来随着临床和实验研究的深入,认为病毒持续感染、遗传因素和免疫应答异常与 MG 的发生密切相关。在病因方面一般认为外因如 Epstein-Barr(EB)病毒感染通过内因起作用,为治疗开拓了新思路<sup>[1]</sup>。肌肉特异性激酶抗体(MuSK-Ab)及近 2 年低密度脂蛋白受体相关蛋白 4 抗体(LRP4-Ab)在该病患者体内的发现已被证实有较高的特异度,尤其是 MuSK 型 MG (MuSK-MG)在病理生理、临床表现及治疗反应上与经典的乙酰胆碱受体型 MG (AChR-MG)存在着相当程度的差异<sup>[2-3]</sup>。在细胞因子方面自身免疫调节因子(autoimmune regulator, AIRE)在胸腺内影响辅助性 T (T-helper, Th) 17 细胞及调节 T 细胞(regulatory T cells, Treg)间的失衡可能是 MG 发病的上游机制<sup>[4]</sup>。针对发病机制的治疗方面, T 细胞、B 细胞及补体等研究可能为生物治疗提供新的靶点。该病自发缓解率低,治疗主要以免疫抑制及清除抗体为主。本研究对近几年病因、发病机制及未来分子靶向治疗的进展作一综述。

## 1 遗传因素

与其他自身免疫病相似,某些人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)位点的易感性可能与 MG 发病有关。诸多研究显示 HLA-DQ 等位基因受累与 MG 发病密切相关。(1)日本最近发现 MuSK 抗体阳性 MG 与 HLA-DRB1 \* 14 和 DQB1 \* 05 有关<sup>[5]</sup>,可认为是对此前发现的东亚及南欧研究显示的 MG 可能与 DQB1 \* 0502 有关的观点的进一步深入和补充。此外,HLA-DR14-DQ5 可能增加 MuSK-MG 发病风险,但易感基因可能受地域影响<sup>[6]</sup>;(2)最近 Deitiker 等对居住于德克萨斯州的 44 例高加索 MG 患者的研究发现了存在与 EOMG 相关的新的 DQ 基因如 DQ (DQB1 \* 0503, \* 0604, \* 0502, \* 0402)<sup>[7]</sup>。最近还报道了一些非 HLA 位点亦可能与 MG 发病相关,如干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )、细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (CTLA-4)、神经型烟碱型乙酰胆碱受体  $\alpha 1$  亚单位(HRNA1)及蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22 (PTPN22)。此前认为 PTPN22 rs2476601 等位基因与包括 MG 在内的多种自身免疫疾病有关。PT-

PN22 rs2476601 可通过干涉自身反应性 B 细胞清除及增强 T 细胞反应诱发自身免疫。但最近 Provenzano 等对意大利 356 例 MG 患者的研究未发现上述相关性<sup>[8]</sup>。该研究小组还发现,一个新的基因位点 PTPN22 rs2488457 可能通过扰乱启动子结合位点 AP-4,进而显示出与 MG 低抗体滴度相关,且往往预示相对较轻的病情。

## 2 感染因素

多项研究表明某些感染刺激可能与 MG 的发生有一定相关性,研究最多的是 EB 病毒感染。对多发性硬化、类风湿关节炎等病的研究提示,EB 病毒可能参与多种自身免疫疾病的发生。然而,该领域既是学界研究的热点,也是难点,不同的国家、不同的实验方法的阳性和阴性的结果兼而有之。早期的多数研究未能从 MG 患者的胸腺中发现 EB 病毒感染的证据,仅少数研究在 MG 患者的增生的胸腺或胸腺瘤中检测出 EB 病毒 DNA。虽然最近的两项研究未能在早发型 MG (early onset MG, EOMG)患者中鉴定出 EB 病毒感染的证据<sup>[9-10]</sup>,但 Serafini 等认为上述阴性结果与检测方法的敏感度有限有关<sup>[11]</sup>。Cavalcante 等应用改良的抗原修复及免疫组化法在 17 例 MG 患者的胸腺中均发现活动的 EB 病毒感染,其激活的关键转录因子 BZLF1 呈高表达状态<sup>[12]</sup>,还发现高浓度 EB 病毒感染的 B 细胞、裂解基因与蛋白的表达及存在 EB 病毒 DNA。随后 Cavalcante 等又进一步证实了 EB 病毒在 MG 患者的胸腺中持续的感染与胸腺的自身免疫反应相关。然而, MG 患者的胸腺内的 EB 病毒感染究竟是由 B 细胞功能障碍,还是免疫监视缺陷所致以及其是否是 MG 发病中必需的环节仍需进一步澄清。最近国内学者的试验也显示为阴性结果<sup>[13]</sup>。不过,有关其他病毒感染和 MG 发病的证据同样越来越多,如人类 I 型 T 细胞白血病病毒(HTLV-1)亦被认为与 MG 发生有关<sup>[12]</sup>。最近 Ragunathan 等对 1 例 HIV 病毒感染后发生 MG 的报道亦支持病毒感染参与 MG 发病的观点<sup>[14]</sup>。

## 3 自身抗体谱

各种特异性的抗体与临床表现、病程、预后及对免疫治疗反应的关系一直是 MG 研究的热点。近年来 MG 发病的非 AChR 抗体机制越来越受到重视,鉴定出这些特异性抗体有望最终阐明 MG 的发病机制。在 AChR-Ab(-)的病例中之前已鉴定出血清 MuSK-Ab(+)的 MG 患者, MuSK-EAMG 动物模型的建立有望进一步阐明该型患者的发病机

制。MuSK-MG 的发病机制与经典的 AChR-MG 不太一样,即(1)经典的 MG 致病部位位于突触后膜,最近 Ghazanfari 等的研究发现 MuSK-Ab 同时累及突触前膜及后膜<sup>[15]</sup>; (2) AChR-MG 发病需补体参与,而 MuSK-Ab 属于 IgG4 亚型的一种,不与补体结合,能造成神经肌肉接合点的中断,从而产生信号传输障碍,Mori 等成功采用 MuSK-Ab 主动免疫 C5 缺陷小鼠的 EAMG 模型,提示补体非 MuSK-MG 发生所必需<sup>[16]</sup>; (3)通常将 AChR-Ab 及 MuSK-Ab 检测均为阴性的 MG 称为双阴性 MG (double-seronegative MG, DSNMG)。要在这部分患者中寻找特异度较高的抗体,一种可行的办法是尝试检测已知在神经肌肉接头处有重要功能,并具有易接近血清抗体胞外结构域的蛋白质。最近 3 个分别来自美国、德国、日本的独立研究小组利用这个思路,先后又在 DSNMG 患者中均检测出了高特异度的 LRP4-Ab,进一步缩小了血清抗体阴性的患者比例<sup>[2, 17-18]</sup>。LRP4 是一种聚集蛋白受体,在神经肌肉接头处主要起激活 MuSK 及参与 AChR 聚集的作用。该抗体抑制 LRP4 与聚集蛋白的相互作用,并且改变肌细胞中 AChR 的聚集,提示潜在的致病作用。目前又把 AChR-Ab, MuSK-Ab, LRP4-Ab 检测均为阴性的 MG 患者称为三阴性患者 (triple-seronegative MG, TSNMG)。最近研究者又试图进一步在 TSNMG 患者中探索可能具有高敏感度的检测方法,Oshima 等在 AChR-Ab(-) 的病例中观察到抗 AChR 自身反应性淋巴细胞扩增的现象,随后在 10 例 AChR-Ab(-)MG 中采用包绕在人 AChR $\alpha$  链细胞外的 18 种重叠合成肽,检测出其中 8 例 T 细胞增殖反应的病例<sup>[19]</sup>。也许不久的将来 T 细胞增殖试剂有望作为诊断工具应用到常规抗体检测阴性的病例中。

在其余的自身抗体方面目前已知多数合并胸腺瘤的 MG 患者可检测出肌联蛋白抗体 (titin-Ab), 兰尼定碱受体抗体 (RyR-Ab), 抗电压门控性钾通道抗体 (Kv-Ab)。以往认为这些抗体滴度与合并胸腺瘤的 MG 患者的疾病严重程度呈正相关。最近 Romi 等对高加索 MG 的研究显示, Kv1.4-Ab(+) 型 MG 多数为轻症、女性的迟发型 MG (Late-onset, LOMG), 提示 Kv-Ab 并非独立预测 MG 病情较重的指标<sup>[20]</sup>。该研究还显示, Kv-Ab(+)MG 有更高的风险合并致死性心功能障碍或心肌炎。此外,最近研究还注意到少数 MG 患者中可能合并视神经脊髓炎相关疾病,这部分病例通常表现为(1)Aquaporin 抗体(AQP4-Ab)阳性;(2)视神经受累和(或)视觉诱发电位异常;(3)脑脊髓白质信号异常和(或)椎体束征<sup>[21-22]</sup>。结合部分病例胸腺中检测到 AQP4-Ab,提示 AQP4-Ab 亦可能参与 MG 发病的某个环节。但鉴于此种重叠现象发生率较低,推测该抗体可能未参与 MG 致病中关键的环节。

#### 4 胸腺在 MG 中的作用

胸腺是中枢免疫器官,与 MG 的发病密切相关。胸腺内免疫微环境具备对 AChR 进行免疫应答的所有条件(T 细胞、B 细胞、浆细胞及表达 AChR 的肌样细胞等),尤其是 T 细胞亚群在各型 MG 胸腺的免疫特征是近年研究的热点之

一。胸腺增生或胸腺瘤最常见于 AChR-MG 患者,近年对 AChR-MG 患者的胸腺内致病机制研究主要集中在以下方面:(1)AIRE 主要表达在胸腺髓质上皮细胞上。在人类 AIRE 缺失会造成自身免疫性多腺体综合征。Aricha 等在 EAMG 模型中观察到 AIRE-/- 小鼠胸腺中 Treg 下降及 Treg 过度表达大量的 Foxp3 蛋白,提示 AIRE 与胸腺内 Treg 及 Th17 细胞可能存在关联,为 MG 自身反应性 T 细胞耐受失调的病理生理机制研究提供了新思路<sup>[4]</sup>; (2)在合并胸腺瘤的 MG (thymoma-associated MG, TAMG) 患者中最近 Zhang 等观察到 2 组眼肌型 MG (Ocular MG, OMG) 与 GMG 人群,胸腺病理检查显示在 Foxp3 及 B 细胞超化 CX-CL13 表达上存在显著差异,提示了 2 组胸腺 OMG 与 GMG 可能存在的免疫病理差异<sup>[23]</sup>; (3)Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) 是固有的免疫组件,与多种自身免疫病的发病机制相关,体内免疫细胞通过 TLR 对消灭病原体、清除炎症发挥重要作用,但其作用在 MG 的发病机制中尚不明了。Cavalcante 等在 27 例 MG 中患者发现 4 例患者的胸腺中合并有 TLR4(+) 的脊髓灰质炎病毒感染,亦支持胸腺内存在慢性炎症的观点<sup>[12]</sup>。然而迄今为止,对以上这些潜在靶点在 MG 发生发展的作用机制仍知之甚少,有必要阐明胸腺内固有成分对各种免疫介质在上述过程和影响效应中的确切作用;或者反过来研究各种免疫介质在胸腺微环境中对结构细胞表型和功能的影响。

#### 5 细胞因子

细胞因子参与 MG 的发病,目前认为 Th17 细胞与 Treg 细胞之间平衡状态的打破是 MG 发病的一个关键因素<sup>[24]</sup>。因此,调节 Th17/Treg 细胞平衡可能成为治疗自身免疫性疾病的 1 个新靶点。CD4+ CD25+ 是 Treg 细胞的 1 个重要亚类,其对自身抗原和非己抗原均有较强的免疫抑制作用。Nessi 等发现在 AChR 诱导小鼠 EAMG 模型的早期致敏阶段注入天然 CD4+ CD25+ T 细胞可改善 EAMG 症状,而在 EAMG 建模 4 周后则未显示出明显效果,提示 CD4+ CD25+ T 细胞可用于 EAMG 早期发生的干预,但不能控制 EAMG 发展<sup>[25]</sup>。最近的研究则进一步在 MG 病例身上证实了上述机制<sup>[26-27]</sup>。Th17 细胞是最近新发现的与 MG 相关的 T 细胞亚群,影响外周血单核细胞分泌,破坏 Th1/Th2 平衡,并可抑制 Treg 产生及其关键转录基因 Foxp3 的表达。Th17 细胞主要效应因子 IL-17,可作用于自身抗原,促进 AChR-Ab 的产生,且与 AChR-Ab 滴度相关,因此在 MG 发病中起重要的促进作用。Aricha 等根据已知 IL-6 可抑制 Th17 细胞分泌 IL-17 的原理,在小鼠的 EAMG 模型中注入抗 IL-6 抗体可下调 Th17 相关基因,抑制 B 细胞及自身抗体产生,进而起到控制 MG 发展的作用,提示潜在的治疗价值<sup>[28]</sup>。但这些细胞因子异常究竟是 MG 的发病根源,还是发病过程中继发的免疫异常,需进一步明确。

#### 6 未来分子靶向治疗

近年来随着临床和实验研究的深入,认为病毒持续感

染、遗传因素和免疫应答异常与 MG 的发生密切相关。针对发病机制的治疗方面, T 细胞、B 细胞及补体等研究可能为生物治疗提供新的靶点, 这些药物有的还处于动物试验阶段, 有的已进入临床试验, 有望将来应用到 MG 患者身上<sup>[4]</sup>。归纳如下: (1) 激活 T 细胞的细胞内信号传导通路如针对 CD52、IL-2R、共刺激分子的单克隆抗体治疗及 Janus 蛋白酪氨酸激酶抑制剂如抗 IL-2R 单抗 (Daclizumab) 治疗处在实验阶段; (2) B 细胞, 主要是清除 B 细胞表面分子、B 淋巴细胞活化、增殖诱导配体 (APRIL), 如上所述的利妥昔单抗 (Rituximab) 针对难治性 MG 治疗<sup>[29]</sup>; 正行 II 期临床试验。此外, 最近在人体和动物试验中均证实 MG 患者体内携带由 IL-10 分泌的 B 细胞 (B10) 的患者往往病情更重且对 Rituximab 反应较好, 因此 B10 有望成为判断 MG 病情和 Rituximab 治疗反应的 1 个关键指标; (3) 补体, 阻断 C3、C5 攻膜复合体形成, 如依库珠单抗 (Eculizumab) 治疗正行 II 期临床试验<sup>[30]</sup>; (4) 细胞因子及细胞因子受体, 包括 IL-6、IL-17、集落刺激因子, 如托珠单抗 (tocilizumab) 治疗正处在实验阶段; (5) 淋巴细胞迁移分子, 如芬戈莫德 (fingolimod) 治疗正处在实验阶段; (6) 抗体, 再造 AChR 抗体 (又称分子诱饵) 从而竞争阻断致病抗体与补体结合: 实验阶段; (7) 病毒学说, 注射疫苗预防 MG 发生, 对 EBV-MG 进行抗 EBV 治疗正处在实验阶段。

### 参 考 文 献

- [1] Cavalcante P, Galbardi B, Franzi S, et al. Increased expression of Toll-like receptors 7 and 9 in myasthenia gravis thymus characterized by active Epstein-Barr virus infection[J]. Immunobiology, 2016, 221(4): 516-527.
- [2] Marino M, Scuderi F, Samengo D, et al. Flow cytofluorimetric analysis of Anti-LRP4 (LDL Receptor-Related protein 4) autoantibodies in Italian patients with myasthenia gravis[J]. PLoS One, 2015, 10(8): e0135378.
- [3] Shen C, Lu Y, Zhang B, et al. Antibodies against low-density lipoprotein receptor-related protein 4 induce myasthenia gravis[J]. J Clin Invest, 2013, 123(12): 5190-5202.
- [4] Aricha R, Feferman T, Berrih-Aknin S, et al. Experimental myasthenia gravis in Aire-deficient mice: a Link between Aire and regulatory T cells[J]. Ann N Y Acad Sci, 2012, 1275: 107-113.
- [5] Kanai T, Uzawa A, Kawaguchi N, et al. HLA-DRB1 \* 14 and DQB1 \* 05 are associated with Japanese anti-MuSK antibody-positive myasthenia gravis patients[J]. J Neurol Sci, 2016, 363: 116-118.
- [6] Alahgholi-Hajibehzad M, Yilmaz V, Gülsen-Parman Y, et al. Association of HLA-DRB1 \* 14, -DRB1 \* 16 and-DQB1 \* 05 with MuSK-myasthenia gravis in patients from Turkey[J]. Hum Immunol, 2013, 74(12): 1633-1635.
- [7] Deitiker PR, Oshima M, Smith RG, et al. Association with HLA DQ of early onset myasthenia gravis in Southeast Texas region of the United States[J]. Int J Immunogenet, 2011, 38(1): 55-62.
- [8] Provenzano C, Ricciardi R, Scuderi F, et al. PTPN22 and myasthenia gravis: replication in an Italian population and meta-analysis of literature data[J]. Neuromuscul Disord, 2012, 22(2): 131-138.
- [9] Kakalacheva K, Maurer M, Tackenberg B, et al. Intrathymic Epstein-Barr virus infection is not a prominent feature of myasthenia gravis[J]. Ann Neurol, 2011, 70(3): 508-514.
- [10] Meyer M, Hls AK, Liersch B, et al. Lack of evidence for Epstein-Barr virus infection in myasthenia gravis thymus[J]. Ann Neurol, 2011, 70(3): 515-518.
- [11] Serafini B, Cavalcante P, Bernasconi P, et al. Epstein-Barr virus in myasthenia gravis thymus: a matter of debate[J]. Ann Neurol, 2011, 70(3): 519.
- [12] Cavalcante P, Barberis M, Cannone M, et al. Detection of poliovirus-infected macrophages in thymus of patients with myasthenia gravis[J]. Neurology, 2010, 74(14): 1118-1126.
- [13] Jing F, Wei D, Wang D, et al. Lack of Epstein-Barr virus infection in Chinese myasthenia gravis patients[J]. Acta Neurol Scand, 2013, 128(5): 345-350.
- [14] Ragunathan K, Pathak B, Dahal K. MuSK myasthenia gravis as a manifestation of immune restoration disease in an HIV-positive patient[J]. J Neurol, 2015, 262(3): 777-778.
- [15] Ghazanfari N, Linsao EL, Trajanovska S, et al. Forced expression of muscle specific kinase slows postsynaptic acetylcholine receptor loss in a mouse model of MuSK myasthenia gravis[J]. Physiol Rep, 2015, 3(12): 1-15.
- [16] Mori S, Kubo S, Akiyoshi T, et al. Antibodies against muscle-specific kinase impair both presynaptic and postsynaptic functions in a murine model of myasthenia gravis[J]. Am J Pathol, 2012, 180(2): 798-810.
- [17] Zhang B, Tzartos JS, Belimezi M, et al. Autoantibodies to lipoprotein-related protein 4 in patients with double-seronegative myasthenia gravis[J]. Arch Neurol, 2012, 69(4): 445-451.
- [18] Pevzner A, Schoser B, Peters K, et al. Anti-LRP4 autoantibodies in AChR- and MuSK-antibody-negative myasthenia gravis[J]. J Neurol, 2012, 259(3): 427-435.
- [19] Oshima M, Deitiker PR, Smith RG, et al. T-cell recognition of acetylcholine receptor provides a reliable means for monitoring autoimmunity to acetylcholine receptor in antibody-negative myasthenia gravis patients[J]. Autoimmunity, 2012, 45(2): 153-160.
- [20] Romi F, Suzuki S, Suzuki N, et al. Anti-voltage-gated Potassium Channel Kv1. 4 antibodies in myasthenia gravis[J]. J Neurol, 2012, 259(7): 1312-1316.
- [21] Ikeguchi R, Shimizu Y, Suzuki S, et al. Japanese cases of neuromyelitis optica spectrum disorder associated with myasthenia gravis and a review of the literature[J]. Clin Neurol Neurosurg, 2014, 125(8): 217-221.
- [22] Balarabe SA, Adamu MD, Watila MM, et al. Neuromyelitis optica and myasthenia gravis in a young Nigerian girl[Z], 2015.
- [23] Zhang M, Li H, Guo J, et al. Different molecular expression in thymoma with ocular or generalized myasthenia gravis[J]. J Neurol Sci, 2012, 313(1/2): 27-31.
- [24] Masuda M, Matsumoto M, Tanaka S, et al. Clinical implication of peripheral CD4+ CD25+ regulatory T cells and Th17 cells in myasthenia gravis patients[J]. J Neuroimmunol, 2010, 225(1/2): 123-131.

---

(上接第 264 页)

- [25] Nessi V, Nava S, Ruocco C, et al. Naturally occurring CD4 + CD25 + regulatory T cells prevent but do not improve experimental myasthenia gravis[J]. J Immunol, 2010, 185(9): 5656-5667.
- [26] Alahgholi-Hajibehzad M, Oflazer P, Aysal F, et al. Regulatory function of CD4(+)CD25(++) T cells in patients with myasthenia gravis is associated with phenotypic changes and STAT5 signaling: 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 modulates the suppressor activity[J]. J Neuroimmunol, 2015, 281: 51-60.
- [27] Hamdoon MN, Fattouh M, El-Din AN, et al. The potential role of cell surface complement regulators and circulating CD4 + CD25 + T-cells in the development of autoimmune myasthenia gravis[J]. Electronic physician, 2016, 8(1): 1718-1726.
- [28] Aricha R, Mizrachi K, Fuchs S, et al. Blocking of IL-6 suppresses experimental autoimmune myasthenia gravis[J]. J Autoimmun, 2011, 36(2): 135-141.
- [29] Anderson D, Phan C, Johnston WS, et al. Rituximab in refractory myasthenia gravis: a prospective, open-label study with long-term follow-up[J]. Annals of clinical and translational neurology, 2016, 3(7): 552-555.
- [30] Howard JF, Barohn RJ, Cutter GR, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II study of eculizumab in patients with refractory generalized myasthenia gravis[J]. Muscle Nerve, 2013, 48(1): 76-84.

(2016-08-14 收稿)