

Graves 眼病发病机制研究进展

王亚琼, 李 红

基金项目: 中国国家自然科学基金资助项目 (No. 81072793); 中国上海市教委科研创新重点资助项目 (No. 11ZZ114)
作者单位: (200032) 中国上海市, 上海中医药大学附属龙华医院内分泌科
作者简介: 王亚琼, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 中医药防治甲状腺疾病的研究。
通讯作者: 李红, 女, 主任医师, 博士, 研究方向: 中医药防治内分泌疾病的研究. shanhongli@126. com
收稿日期: 2011-09-16 **修回日期:** 2011-11-15

Progression of pathogenesis of Graves' ophthalmopathy

Ya-Qiong Wang, Hong Li

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81072793); Important Projects about Research and Innovation of Shanghai Education Commission, China (No. 11ZZ114)
Department of Endocrinology, Long Hua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China
Correspondence to: Hong Li. Department of Endocrinology, Long Hua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China. shanhongli@126. com
Received: 2011-09-16 Accepted: 2011-11-15

Abstract

• Graves' ophthalmopathy (GO) is thought to be a specific autoimmune disorder related to Graves' disease, but its pathogenesis is unclear. This article is to review the progress in pathogenesis of Graves' ophthalmopathy in different subjects, such as genetics, environment, immunology and pathology.
• **KEYWORDS:** Graves' ophthalmopathy; pathogenesis; progression

Wang YQ, Li H. Progression of pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *Gujie Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012; 12(1): 65-68

摘要

Graves 眼病 (Graves' ophthalmopathy, GO) 是一种与 Graves 病相关的器官特异性自身免疫性疾病, 其具体发病机制不清。我们从遗传、环境、免疫、病理等方面对 GO 发病机制的研究进展进行综述。

关键词: Graves 眼病; 发病机制; 研究进展

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2012. 01. 20

王亚琼, 李红. Graves 眼病发病机制研究进展. 国际眼科杂志 2012; 12(1): 65-68

0 引言

Graves 眼病 (Graves' ophthalmopathy, GO) 是 Graves 病最常见的甲状腺外表现^[1], 其具体发病机制尚不明确, 目前普遍认为是一种器官特异性自身免疫性疾病^[2], 可发生于甲状腺功能亢进症状出现的同时、之前或之后。早期组织学变化为大量淋巴细胞浸润、氨基葡聚糖 (GAG) 沉积及水肿, 晚期出现眼球后组织纤维化^[3]。我们主要对目前 GO 发病机制的研究进展作一综述。

1 遗传易感性

人类白细胞抗原 (HLA) 分子是结构相似的跨膜糖蛋白, 属免疫球蛋白超家族, 主要功能是参与抗原的加工和提呈, 并调控免疫应答中免疫细胞间的相互作用。HLA-DR 称为经典 HLA 基因。1983 年 Bothers 首先提出 HLA-DR 抗原表达, 可能是甲状腺自身免疫病的关键。而 Hiromatsu 等^[4]采用冰冻切片证实未经治疗的 GO 患者的眼外肌 HLA-DR 呈强阳性。周晓红等^[5]研究发现, HLA-DR 在人眼外肌的纤维母细胞、血管内皮细胞和浸润的淋巴细胞中表达, 且以未治疗组表达明显。

细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (CTLA-4) 分子表达在活化的 T 细胞表面, 与 B7 分子结合后可抑制 T 细胞增殖、活化, 对 T 淋巴细胞起负性调节作用, 可推测该基因的多态性可能通过改变 CTLA-4 分子的表达和功能, 引起 T 淋巴细胞免疫异常, 从而促进 GO 的发病。陈光明等^[6]应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术测定 107 例 Graves 病 (GD) 患者 CTLA-4 基因第 1 外显子 A49G 多态性, 结果显示无眼病组与伴突眼组 GG 基因型及等位基因 G 的频率差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示 CTLA-4 第 1 外显子 49 位点 G 等位基因可能是 GD 患者伴发 GO 的遗传易感因素。Daroszewski 等^[7]研究发现 GO 患者血液中可溶性 CTLA-4 的浓度比健康人高, 且首次提出了可溶性 CTLA-4 浓度增加与 GO 的严重性有关联。此外, Khalilzadeh 等^[8]研究发现抗炎性细胞因子 (IL-2, IFN- γ 和 TNF- α 等) 的基因多态性与 GO 易感性有关。

2 环境因素

研究发现, GO 患者中吸烟者约是不吸烟者的 4 倍^[9]。吸烟可使免疫抑制剂治疗与放射治疗的疗效显著降低^[10], 影响 GO 治疗进程。目前对吸烟导致 GO 的发病机制尚不清楚, 可能的原因是: (1) 直接作用造成眼眶组织局部缺氧^[11]; (2) 非特异性抑制 T 细胞的活性, 损害体液和细胞免疫反应^[12]; (3) 促使成纤维细胞增殖, 增加透明质酸 (HA) 形成^[13]。此外, Regensburg 等^[14]还发现吸烟与

GO患者眼外肌肌肉容积的增加有关。

3 免疫学机制研究

3.1 T淋巴细胞 GO患者炎症阶段的特征为T淋巴细胞浸润,常伴有B淋巴细胞、肥大细胞和巨噬细胞。研究表明,CD4⁺的T淋巴细胞通过识别甲状腺、眶内组织及眼球外的自身抗原并与其受体相结合而被激活,产生各种细胞因子和黏附分子,并激活CD8⁺T淋巴细胞或B细胞,最终产生各种自身抗体,参与GO发病。另外,Feldon等^[15]体外培养实验证实,T淋巴细胞还可通过刺激球后成纤维细胞增殖及GAG的分泌参与GO发生发展。

3.2 细胞因子 Heufelder等^[16]研究发现,在GO患者球后组织中有单核细胞浸润,并在这些组织中检测到IL- α 、IFN- γ 和TNF- α 等细胞因子。免疫组织化学研究发现,早期活动性GO患者球后、眼外肌浸润的淋巴细胞胞浆以及周围结缔组织中致炎性细胞因子(如IL- α 、IFN- γ 和TNF- α)增加,这些细胞因子在GO患者的病理发展过程中起重要作用:(1)可诱导眼眶组织MHC-II类分子、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)和热休克蛋白72(HSP72)及前列腺素E₂(PGE₂)的表达以调节自身免疫反应^[17];(2)可通过刺激眼眶成纤维细胞(orbital fibroblasts,OF)增殖和分泌大量的GAG,促使GO的发展^[18]。细胞因子谱的变化与GO的活动性和病程有关。Aniszewski等^[19]认为GO病程少于2a者,细胞因子以Th1型(TNF- α 、IL-2、IFN- γ)为主,主要介导细胞免疫;病程大于2a者以Th2型(IL-4、IL-5、IL-10)为主,主要介导体液免疫。Han等^[20]研究进一步证实该观点,他们还发现在Th1>Th2过渡时,两类细胞因子对球后致炎因子PGE₂和HA的生成具有同等的作用。

3.3 黏附分子 淋巴细胞进入眼球后的过程由趋化细胞因子和黏附分子(如ICAM-1,血管内皮细胞黏附分子等)介导^[21]。趋化因子刺激血管内皮和结缔组织表达黏附分子,黏附分子介导T淋巴细胞、球后成纤维细胞和细胞外基质的相互作用。Heufelder等^[22]通过免疫组织化学检测到严重GO患者的邻近眼外肌肌束膜结缔组织、微血管内皮细胞、较大血管的内皮细胞和眶后段结缔组织的成纤维细胞中,ICAM-1呈强免疫活性。

3.4 与GO相关的自身抗原

3.4.1 促甲状腺素受体 Kriss等^[23]率先提出在甲状腺和眼眶受累组织之间存在共同抗原,其中以促甲状腺素受体(TSHR)倍受关注。目前TSHR及其抗体在GO发病机制中的作用仍不清楚。研究发现眼眶结缔组织和眼外肌成纤维细胞可表达TSHR mRNA^[24]。少数研究证实,TSHR活化可调节GO中OF的HA合成。van Zeijl等^[25]用重组人促甲状腺素及TSHR刺激GD免疫球蛋白,干预未分化的OF,结果显示活化的TSHR并不改变HA合成。在GO患者眼眶脂肪细胞中也检测到TSHR mRNA表达,且眶内前脂肪细胞分化为成熟的脂肪细胞后,其TSHR的表达量增加^[26]。TSHR作为一种自身抗原在眼眶组织中表达,被表达HLA-II类分子的局部抗原递呈细胞吞噬加工后将这一自身抗体递呈给T细胞,导致T细胞活化,启动细胞免疫。

3.4.2 胰岛素样生长因子受体 研究发现,GO患者OF和眼外肌中都有免疫活性的胰岛素样生长因子-1(IGF-1)存在。Weightman等首先发现IGF-1结合位点对人OF具有高亲和性^[27],之后研究者开始注意到IGF-1受体(IGF-1r)和受体自身抗体与GO的关系。研究显示,IGF-1和Graves病患者的IgG均可诱导GO患者眶成纤维细胞表达IL-16和RANTES,这些细胞因子诱导GO患者T细胞的趋化和活化,使自身免疫反应可以持续进行^[28]。此外还可促进OF中HA的合成^[29],参与GO的发病。

3.4.3 眼肌膜抗原 研究发现有两种眼肌膜抗原与GO有关,一种是G2S蛋白,分子量为55kU,Gunji等^[30]研究发现抗G2S抗体可能是GO的早期标志。Kaspar等^[31]则采用酶联免疫吸附法测定GO患者血清中的抗G2S抗体,其检出率为89%,而正常对照组仅为22%。另一种是黄素蛋白(Fp),分子量为64kU,Fp在眼肌纤维损伤和线粒体破裂后产生,其抗体是免疫介导的眼肌坏死的敏感标志。

3.5 B淋巴细胞 免疫组织化学研究发现,GO球后浸润的单个核细胞主要是T淋巴细胞,还有少量的B淋巴细胞^[32]。B淋巴细胞除作为分泌抗体的浆细胞的前体外,还可递呈抗原及产生细胞因子。将GO患者球后组织移植给严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠(无成熟的T和B淋巴细胞),结果发现大多数移植小鼠血浆可检测到甲状腺刺激抗体(TSAb),而在移植非GO患者球后组织的小鼠血浆中则检测不到^[33]。用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)扩增GO患者球后组织IgG重链和轻链的DNA,进一步证实眼球局部浸润的B淋巴细胞可产生自身抗体。

4 病理学机制研究

4.1 成纤维细胞 GO的主要病理特征是眼眶内淋巴细胞浸润及眼眶结缔组织、眼外肌的水肿变性。研究表明,成纤维细胞分布在球后结缔组织和眼肌膜中,是GO自身免疫反应的靶细胞和效应细胞。OF表面可高表达CD40,CD40通过与T细胞表面的CD40L结合提供T细胞共刺激通路,导致幼稚T细胞的大量克隆,促进促炎症细胞因子如IL-1、IL-6和IL-8的产生^[34],活化的细胞因子反过来激活PG内过氧化物H合酶2、透明质酸合成酶等基因表达^[35],从而导致炎症反应和HA的产生。因此,CD40-CD40L代表一个重要的成纤维细胞活化通路,可作为GO治疗的一个重要靶点。

眼眶结缔组织由异型性的OF组成,这些细胞的异型性可能是GO不同临床表现的基础。细胞表面糖蛋白Thy-1(CD90)的表达,可用来描述OF亚型的表型和功能。研究证实OF至少存在两个细胞亚群:眼外肌来源的成纤维细胞以Thy-1⁺细胞为主,在TGF- β 的作用下产生IL-6和IL-8及细胞外基质成分促进炎症反应和眼眶的纤维化;眼眶脂肪或结缔组织来源的成纤维细胞以Thy-1⁻细胞为主,可分化为脂肪细胞^[36]。眶内Thy-1⁺和Thy-1⁻的成纤维细胞的相对比例以及暴露于TGF- β 的程度可能决定了GO的发展方向:眼外肌肥大或眶脂肪膨胀以及纤维化的程度。

4.2 脂肪细胞 Nishida 等^[37]研究发现,GO 患者眼眶中脂肪组织容积的增加明显高于眼外肌容积的增加,并且眼眶总脂肪容积与 GO 突眼度的相关系数明显高于眼外肌容积,说明眼眶脂肪容积增加在 GO 的发病中起着十分重要的作用。研究表明,GO 患者脂肪组织的增加,不但能直接导致眼压增高、眼球突出,而且脂肪组织本身作为一种新的内分泌器官,可分泌多种脂肪细胞因子、生长因子及蛋白分子参与 GO 的发生和发展^[38],故眼眶脂肪细胞在 GO 发病机制中占重要地位。

正常脂肪组织中,成熟脂肪细胞占 1/3 ~ 2/3,其余细胞包括前脂肪细胞、血细胞、内皮细胞等。而前脂肪细胞属于成纤维细胞的一个亚型,由于其转化功能,脂肪组织始终保持着增殖能力。Tipton 等^[39]经体外实验已经证实 GO 眼眶前脂肪细胞的存在,并且具有向成熟脂肪细胞分化的能力。脂肪细胞的分化由几个转录因子协同调节,其中起正向调节作用的主要有 CCAATT 增强子结合蛋白 (C/EBP) 及过氧化物酶体增殖体激活受体 (PPAR γ)。Kumar 等^[40]应用 RT-PCR 检测发现,在体内 TAO 患者眼眶脂肪组织中 PPAR α 基因 mRNA 水平明显高于正常对照组。Starkey 等^[41]报道 PPAR α 激动剂罗格列酮对眶内成纤维细胞脂肪化起重要作用,而 PPAR γ 拮抗剂则可抑制脂肪细胞的形成,这可能为 GO 的治疗提供新的靶点。

5 结语

研究表明,遗传因素、吸烟、T 和 B 淋巴细胞及其细胞因子、成纤维细胞和脂肪细胞等在 GO 的发病机制中均起着重要作用。目前学术界对于 GO 的具体发病机制已达成一些共识,相信随着对其发病机制的进一步了解,将来能够找出更有前景的治疗方法。

参考文献

- 1 Prabhakar BS, Bahn RS, Smith TJ. Current perspective on the pathogenesis of Graves' disease and ophthalmopathy. *Endocr Rev* 2003; 24(6):802-835
- 2 Burch HB, Wartofsky L. Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management. *Endocr Rev* 1993; 14(6): 747-793
- 3 Bahn RS, Heufelder AE. Pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med* 1993;329(20):1468-1475
- 4 Hiromatsu Y, Tanaka K, Ishiscka N, et al. Human histo-compatibility leukocyte antigen-DR and heat shock protein-70 expression in eye muscle tissue in thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80(2):685-691
- 5 周晓红,罗清礼,夏瑞南. Graves 眼病眼眶组织 HLA-DR 和 HSP-70 表达的研究. *眼科新进展* 2000;20(1):17-20
- 6 陈光明,沈飞霞. Graves 眼病与 CTLA-4 基因第 1 外显子 A49G 多态性及临床特点的相关性研究. *实用医学杂志* 2007;23(5):642-644
- 7 Daroszewski J, Pawlak E, Karabon L, et al. Soluble CTLA-4 receptor an immunological marker of Graves' disease and severity of ophthalmopathy is associated with CTLA-4 Jo31 and CT60 gene polymorphisms. *Eur J Endocrinol* 2009;161(5):787-793
- 8 Khalilzadeh O, Anvari M, Esteghamati A, et al. Genetic susceptibility to Graves' ophthalmopathy: The role of polymorphisms in anti-inflammatory cytokine genes. *Ophthalmic Genetics* 2010;31(4):215-220
- 9 Vestergaard P. Smoking and thyroid disorders a meta-analysis. *Eur J*

- Endocrinol* 2002;146(2):153-161
- 10 Eckstein A, Quadbeck B, Mueller G, et al. Impact of smoking on the response to treatment of thyroid associated ophthalmopathy. *Br J Ophthalmol* 2003;87(6):773-776
- 11 Hegedius L, Brix TH, Vestergaard P. Relationship between cigarette smoking and Graves' ophthalmopathy. *J Endocrinol Invest* 2004;27(3): 265-271
- 12 Costenbader KH, Karlson EW. Cigarette smoking and autoimmune disease: what can we learn from epidemiology? *Lupus* 2006; 15(11): 737-745
- 13 Cawood TJ, Moriarty P, O'Farrelly C, et al. Smoking and thyroid associated ophthalmopathy: a novel explanation of the biological link. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(1):59-64
- 14 Regensburg NI, Wiersinga WM, Berendschot TT, et al. Effect of smoking on orbital fat and muscle volume in Graves' orbitopathy. *Thyroid* 2011;21(2):177-181
- 15 Feldon SE, Park DJ, O'loughlin CW, et al. Autologus T-lymphocytes stimulate proliferation of orbital fibroblasts derived from patients with Graves' ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(11): 3913-3921
- 16 Heufelder AE, Bahn RS. Detection and localization of cytokine immunoreactivity in retro-ocular connective tissue in Graves ophthalmopathy. *Eur J Clin Invest* 1993;23(1):10-17
- 17 Ajjan RA, Weetman AP. New understanding of the role of cytokines in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *Endocrinol Invest* 2004; 27(3):237-245
- 18 Smith TJ. Orbital fibroblasts exhibit a novel pattern of responses to proinflammatory cytokines: potential basis for the pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 2002;12(3):197-203
- 19 Aniszewski JP, Valyasevi RW, Bahn RS. Relationship between disease duration and predominant orbital T cell subset in Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(2):776-780
- 20 Han R, Smith TJ. T helper type 1 and type 2 cytokines exert divergent influence on the induction of prostaglandin E₂ and hyaluronan synthesis by interleukin-1 β in orbital fibroblasts: implications for the pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Endocrinology* 2006; 147(1):13-19
- 21 Heufelder AE, Joba W. Thyroid-associated eye disease. *Strabismus* 2000;8(2):101-111
- 22 Heufelder AE, Bahn RS. Elevated expression *in situ* of selection and immunoglobulin superfamily type adhesion molecules in retroocular connective tissues from patients with Graves ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 1993;91(3):381-389
- 23 Kriss JP, Pleshakov V, Rosenblum AL, et al. Studies on the pathogenesis of the ophthalmopathy of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1967;27(4):582-593
- 24 Tsui S, Naik V, Hoa N, et al. Evidence for an association between thyroid-stimulating hormone and insulin-like growth factor I receptors: a tale of two antigens implicated in Graves' disease. *J Immunol* 2008;181(6):4397-4405
- 25 van Zeijl CJ, Fliers E, van Koppen CJ, et al. Effects of thyrotropin and thyrotropin-receptor-stimulating Graves' disease immunoglobulin G on cyclic adenosine monophosphate and hyaluronan production in nondifferentiated orbital fibroblasts of Graves' ophthalmopathy patients. *Thyroid* 2010;20(5):535-544
- 26 Bahn RS. Thyrotropin receptor expression in orbital adipose/

- connective tissues from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 2002;12(3):193-195
- 27 Pritchard J, Han R, Horst N, *et al.* Immunoglobulin activation of T cell chemoattractant expression in fibroblasts from patients with Graves' disease is mediated through the insulin-like growth factor-1 receptor pathway. *J Immunol* 2003;170(12):6348-6354
- 28 Smith TJ. The putative role of fibroblasts in the pathogenesis of Graves' disease: evidence for the involvement of the insulin-like growth factor-1 receptor in fibroblast activation. *Autoimmunity* 2003;36(6-7):409-415
- 29 Smith TJ, Hoa N. Immunoglobulins from patients with Graves' disease induce hyaluronan synthesis in their orbital fibroblasts through the self-antigen, insulin-like growth factor-1 receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(10):5076-5080
- 30 Gunji K, De Bellis A, Li AW, *et al.* Cloning and characterization of the novel thyroid and eye muscle shared protein G2s: autoantibodies against G2s are closely associated with ophthalmopathy in patients with Graves' hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85(4):1641-1647
- 31 Kaspar M, Archibald C, De BA, *et al.* Eye muscle antibodies and subtype of thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 2002;12(3):187-191
- 32 Gianoukakis AG, Khadavi N, Smith TJ. Cytokines, Graves' disease and thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 2008;18(9):953-958
- 33 Balm RS. Understanding the immunology of Graves' ophthalmopathy. Is it an autoimmune disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000;29(2):287-296
- 34 Ramsdell F, Seaman MS, Clifford KN, *et al.* CD40 ligand acts as a costimulatory signal for neonatal thymic gamma delta T cells. *J Immunol* 1994;152(5):2190-2197
- 35 Cao HJ, Wang HS, Zhang Y, *et al.* Activation of human orbital fibroblasts through CD40 engagement results in a dramatic induction of hyaluronan synthesis and prostaglandin endoperoxide H synthase-2 expression. Insights into potential pathogenic mechanisms of thyroid-associated ophthalmopathy. *J Biol Chem* 1998;273(45):29615-29625
- 36 Smith TJ, Koumas L, Gagnon A, *et al.* Orbital fibroblast heterogeneity may determine the clinical presentation of thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(1):385-392
- 37 Nishida Y, Tian S, Isberg B, *et al.* Significance of orbital fatty tissue for exophthalmos in thyroid-associated ophthalmopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;240(7):515-520
- 38 罗清礼. 重视有关眼眶脂肪组织在甲状腺相关眼病中作用的研究. *中华眼科杂志* 2006;42(12):1057-1059
- 39 Tipton DA, Lyle B, Babich H, *et al.* *In vitro* cytotoxic and anti-inflammatory effects of myrrh oil on human gingival fibroblast and epithelial cells. *Toxicol In Vitro* 2003;17(3):301-310
- 40 Kumar S, Coenen MJ, Scherer PE, *et al.* Evidence for enhanced adipogenesis in the orbits of patients with Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):930-935
- 41 Starkey K, Heufelder A, Baker G, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in thyroid eye disease: contraindication for thiazolidinedione use. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(1):55-59