

甲状腺相关性眼病活动性检测指标: 细胞因子、黏附分子及糖胺聚糖的研究

齐冬梅, 何为民

作者单位: (610041) 中国四川省成都市, 四川大学华西医院眼科
作者简介: 齐冬梅, 女, 住院医师, 硕士研究生。
通讯作者: 何为民, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师. hewmhuangy@hotmail.com
收稿日期: 2009-09-24 修回日期: 2009-11-25

聚糖

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.01.037

齐冬梅, 何为民. 甲状腺相关性眼病活动性检测指标: 细胞因子、黏附分子及糖胺聚糖的研究. 国际眼科杂志 2010; 10(1): 115-117

Active indices of thyroid-associated ophthalmopathy: cytokine, adhesion molecule and glycosaminoglycan

Dong-Mei Qi, Wei-Min He

Department of Ophthalmology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Correspondence to: Wei-Min He. Department of Ophthalmology, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. hewmhuangy@hotmail.com

Received: 2009-09-24 Accepted: 2009-11-25

Abstract

• Thyroid-associated ophthalmopathy (TAO) is correlated to thyroid disease. Its clinical features are the accumulation of glycosaminoglycan (GAG), exophthalmos, upper eyelid retraction and diplopia. TAO have active and inactive stage according to symptoms, signs and other assistant examinations, but all of the examinations have the influence of patients and doctors. In recent years, the researches of cytokine, adhesion molecule and GAG give extensive prospect in TAO. This paper reviewed the value of cytokine, adhesion molecule and GAG in thyroid-associated ophthalmopathy.

• KEYWORDS: thyroid-associated ophthalmopathy; cytokine; adhesion molecule; glycosaminoglycan

Qi DM, He WM. Active indices of thyroid-associated ophthalmopathy: cytokine, adhesion molecule and glycosaminoglycan. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010; 10(1): 115-117

摘要

甲状腺相关性眼病是一种与甲状腺疾病相关的器官特异性自身免疫性疾病, 其病理表现为大量糖胺聚糖堆积, 导致眼球突出, 上睑挛缩, 复视等临床表现。根据疾病活动性, 可以进行活动期与静止期的分类。目前甲状腺相关性眼病活动性评价主要依据患者的症状和体征, 以及影像学检查。细胞因子、黏附分子及糖胺聚糖的研究, 为甲状腺相关性眼病活动性的客观评价提供了广阔的前景, 现做一综述。

关键词: 甲状腺相关性眼病; 细胞因子; 黏附分子; 糖胺

0 引言

甲状腺相关性眼病 (thyroid-associated ophthalmopathy, TAO) 是最常见的眼眶疾病之一, 居成年人眼眶病发病率的首位。其重要的病理特征是眼眶组织大量糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 的堆积, 从而导致球后结缔组织和眼外肌水肿, 引起眼球突出, 上睑挛缩, 复视、斜视、视神经受损等临床表现。根据疾病活动性, 可以进行活动期与静止期的分类。在疾病的活动期, 主要表现为眼部淋巴细胞浸润、水肿和成纤维细胞的活化; 静止期, 主要表现为纤维化和脂肪的沉积。根据疾病的活动性和严重程度, 在治疗上将采取不同的措施, 因此寻找一些方法来评判眼病的活动性, 对治疗时机的选择和预后的估计有重要意义。对 TAO 活动性评价目前主要根据患者的症状和体征, 以及影像学检查, 这对疾病活动性的评价易受到患者自身和眼科医师工作经验等主观因素的影响。近年来在 TAO 活动期指标的研究中, 细胞因子、黏附分子及 GAG 的研究取得了一些新的进展, 为 TAO 活动性的评价提供了客观性的依据, 现做一综述。

1 细胞因子、黏附分子和 GAG 在 TAO 眼眶组织的表达

1.1 细胞因子 细胞因子是机体炎症和免疫应答过程中体内免疫细胞或非免疫细胞产生的一组具有广泛生物学活性的异质性肽类调节因子。单核/巨噬细胞、T 细胞、B 细胞、成纤维细胞等均可产生细胞因子。细胞因子的种类很多, 目前已知的重要细胞因子大致分为五类: 干扰素群系 (IFNs)、白介素群系 (ILs)、克隆刺激因子群系 (CSFs)、转化生长因子群系 (TGFs) 和肿瘤坏死因子群系 (TNFs)。细胞因子作为细胞间的信号传递分子, 在 TAO 的发病中起着非常重要的作用, 可通过多种途径导致 TAO 的发生或发展: 包括刺激眼眶成纤维细胞增殖和分泌大量的透明质酸 (hyaluronic acid, HA)^[1], 促进细胞间黏附分子 (intercellular adhesion molecule, ICAM) 的表达上调, 促进氧自由基的产生, 促进前列腺素 E₂ 的生成, 以及通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用等促使 TAO 的发病。许多实验表明在 TAO 患者的眼眶局部组织存在多种细胞因子的紊乱与失衡, 其中最常见的是 ILs, TNFs 和 IFNs 等^[2]。Chen 等发现在 TAO 患者中成纤维细胞产生大量的 IL-6, 但在其他是组织中未见 IL-6 的增加。Pappa 等^[3]采用了两种方法: 即用 ELISA 法测定培养的眼外肌浸润 T 细胞上清液中的细胞因子和 RT-PCR 法测球后组织中细胞因子 mRNA 的表达。在培养的上清液中检出了 IL-4, IFN- γ , IL-10, IFN- β , TGF- β 1, IL-2, 而以 IFN- γ , IL-10,

TGF- β 1, IL-2 为主;PCR 法检测出 IL-1 α , IL-2, IL-10, IL-4, IL-8, TNF- α , IL-6, IL-15。张学进等^[4]研究表明证实 IL-1, INF- γ 在 5U/mL 时能明显刺激眼眶成纤维细胞增殖和透明质酸的分泌,而且当浓度为 500U/mL 时,对 TAO 患者与正常人成纤维细胞的作用有显著性差异,证实了细胞因子的异常是 TAO 发病的原因。

1.2 黏附分子 黏附分子是指由细胞产生、存在于细胞表面、介导细胞与细胞间或细胞与基质间相互接触和结合的一类分子。黏附分子种类繁多,分布广泛。主要归属于免疫球蛋白超家族、整合素家族、选择素家族、钙依赖素家族及尚未分类的黏附分子等 5 个大家族^[5]。其中免疫球蛋白超家族中的 ICAM、血管细胞黏附分子 (vascular cell adhesion molecule, VCAM) 的作用更受到关注。Pappa 等^[6]采集 TAO 与非 TAO 患者的眼外肌活体组织标本,通过免疫组织化学的方法检测了几种黏附分子在不同病程的 TAO 患者眼外肌中的表达和分布,发现在早期未经治疗的 TAO 患者标本中围绕眼外肌的间质与结缔组织肌束膜及大量单核细胞中 ICAM-1 高表达,同时选择素 E, VCAM-1 与 ICAM-1 高表达于血管内皮细胞。在疾病晚期患者样本中 ICAM-1, 内皮细胞-白细胞黏附因子 (endothelial-leucocyte adhesion molecule, ELAM-1) 和 VCAM-1 免疫活性表达降低。而白细胞整合素 CD11a, CD11b, CD11c 在早期病变样本中表达明显高于晚期样本,在经治疗的患者样本中表达微量或不表达,提示黏附分子表达的增加与疾病的活性程度密切相关。Cawood 等^[7]通过体外培养 TAO 患者的眶组织成纤维细胞,结果显示 TAO 患者眶后组织 ICAM-1 含量比正常组织增长 8~10 倍。何为民等^[8]采用免疫组织化学双重染色法对 16 例严重的 TAO 患者的眼外肌冰冻组织切片进行光学显微镜观察,发现 TAO 患者眼外肌束膜结缔组织、单核细胞、成纤维细胞和血管内皮细胞 ICAM-1 染色阳性;VCAM-1 主要表达于血管内皮细胞。ICAM-1 染色(++)者 12 例,病程均 < 2a; ICAM-1 染色(+)或(-)者 4 例,病程均 > 2a。VCAM-1 染色(++)者病程均 < 1a; VCAM-1 染色(+)或(-)者病程均 > 1a。提示 ICAM-1 和 VCAM-1 的高表达与 TAO 的活性有密切的关系。

1.3 GAG 和 HA 在 TAO 中作用机制 GAG 是多糖中的一种,是一类由重复的二糖结构单元组成的带有负电荷的长链大分子。作为蛋白聚糖的一部分,广泛存在于脊椎动物组织的细胞外基质中。常见的 GAG 有 HA、硫酸软骨素(CS)、硫酸皮肤素(DS)、硫酸角质素(Kep2S)和肝素(Hep) 6 种^[9]。TAO 患者球后组织有大量的 GAG 聚集,导致球后结缔组织与眼外肌的水肿、变性引起眼球突出、上睑挛缩、暴力性角膜炎、复视等临床表现^[10]。HA 作为 GAG 的主要成分,其最显著的理化性质是黏弹性,由于带有大量的负电荷可以吸收水分,引起组织膨胀。Terry^[11]研究发现 TAO 患者眼眶成纤维细胞产生 GAG 的能力要大于皮肤成纤维细胞 15 倍以上。刘春玲等^[12]研究发现急性期眼眶组织中可见大量淋巴细胞浸润,眼眶脂肪细胞间质增多,有大量酸性粘多糖堆积。董凯等^[13]在 TAO 的病理组织学研究发现 TAO 的活动期肌束间可见大量淋巴细胞,阿辛蓝染色可见脂肪间质蓝染,证实为粘多糖堆积。

2 TAO 患者血中细胞因子、黏附分子及透明质酸的变化及尿糖胺聚糖的变化

2.1 血清细胞因子 类似其他许多自身免疫疾病,TAO 患

者体内也存在着多种细胞因子的平衡失调和异常表达。国内外许多研究都证实了 TAO 患者外周血 sIL-2R 水平升高,而 IL-2, mL-2R(膜白介素 2 受体)水平偏低,经抗甲亢治疗后相应地恢复正常^[14]。Siddiqi 等^[15]发现 TAO 患者外周血中 IL-2/sIL-2R, IL-6/sIL-6R 水平异常,还发现 TNF, INF- γ , sIL-1R α 水平也异常。唐莉等^[16]检测 35 例 TAO 急性期患者组及 15 例 TAO 慢性缓解期患者组外周血 IL-2, IL-6, sIL-2R, sIL-6R 及 TNF, 并将急性期患者行米歇尔方案治疗前与治疗组外周血细胞因子的浓度进行对比,结果显示:急性期患者治疗前 IL-6, sIL-2R, sIL-6R 及 TNF 浓度高于正常,经短期糖皮质激素治疗后,IL-6 浓度恢复正常,sIL-2R, sIL-6R 及 TNF 浓度也有不同程度下降。还发现 sIL-2R, IL-6 及 TNF 间呈正相关,提示细胞因子间有着非常复杂的相互调节作用,协同参与了 TAO 的发生和发展,多数细胞因子浓度与病程和治疗密切相关。

2.2 血清可溶性黏附分子 Kulig 等^[17]发现 TAO 患者 sICAM-1 水平明显高于 Graves 病无眼部表现组与正常组患者水平。且 sICAM-1 浓度与 TAO 的临床活动性及病程评分成正相关。Heufelder 用 ELISA 检测了 TAO 和甲状腺病患者 sICAM-1 水平,发现 TAO 和其他几种甲状腺病患者 sICAM-1 水平普遍升高,且 TAO 患者 sICAM-1 水平最高。激素治疗严重的 TAO 患者 3mo,绝大部分 sICAM-1 水平下降。Wakelkamp 等^[18]用 ELISA 法对有眼部表现而未经治疗的 Graves 病患者(TAO 组)、无眼部表现的 Graves 病患者和正常对照组患者的血清样本中 sICAM-1, sVCAM-1 和 sELAM-1 进行分析,结果表明:TAO 患者 sICAM-1, sVCAM-1 和 sELAM-1 浓度均高于无眼部表现的 Graves 病组与正常组,而无眼部表现的 Graves 病患者 sICAM-1, sVCAM-1 和 sELAM-1 浓度与正常组无明显差异。且发现 sICAM-1 浓度与 TAO 的病变严重性成正相关,TAO 患者 sICAM-1 水平可作为评价眼部病变严重程度的重要指标。而 Krassas 等^[19]通过对经生长抑素类似物治疗的患者血清检测,与对照组相比 TAO 活动期的患者血清中的 TNF- α , sICAM-1, sVCAM-1 和 sIL-1RA 值有明显下降。通过监测 sICAM-1 和 sELAM-1 的浓度,可反映 TAO 的发生和皮质类固醇治疗的效果,对进一步阐明 TAO 的致病机制、临床病情监测以及寻求治疗中的免疫调控都具有极高的价值。

2.3 血 HA 及尿 GAG 的变化 TAO 患者不仅眼眶组织有 GAG 沉积,而且血 HA 及尿 GAG 水平也增高,并随治疗反应发生变化。黄勤等^[20]用改良的 Whiteman 法测定了 TAO 患者,无眼病的 Graves 病患者,眼肿瘤引起突眼的患者尿中 GAG 排泄量,结果发现与正常对照比较,TAO 患者尤其是活动性突眼患者尿 GAG 排泄量明显增加,而无眼病的 Graves 病患者和眼肿瘤患者的尿 GAG 排泄量差异无显著性。闽寒毅等^[21]用紫外线可见分光光度法检测了正常人和 TAO 活动期患者 24h 尿的 GAG 含量,结果发现正常人 24h 尿 GAG 的总量值为 (19.7 \pm 9.7) mg/24h,活动期 TAO 患者为 (35.5 \pm 11.4) mg/24h,与正常人组比较有显著的差异;同时检测 5 例 TAO 患者经糖皮质激素治疗后尿 GAG 含量,均降至正常范围。Martins 等^[22]用微量电泳法和荧光免疫法分别测定尿 GAG 和血浆 HA,结果发现非活动期的 TAO 患者尿 GAG 和血 HA 与对照组值无明显差别,而活动期 TAO 患者尿 GAG 及血 HA 高出静止期患者的 2~3 倍。Kahaly 等^[23]用放射治疗 TAO 患者后发现

尿中24h GAG水平明显下降。因此测定患者尿中GAG及血中HA含量,可作为TAO存在活动性的参数。另外,它们还可作为临床及时停用治疗突眼的药物如激素等的一个参考指标。因为一旦恢复正常,就意味着突眼由活动期进入静止期,原有眼病的治疗已不能改善眼部症状。

目前TAO的发病机制尚不清楚,细胞因子、黏附分子以及GAG和HA在其发生发展过程中起了重要的作用,检测其在血、尿中浓度可以作为反应TAO活动性的指标及药物治疗的效果。另一方面,阻断这些反应,有可能阻断球后的免疫过程,为治疗TAO提供新的途径。

参考文献

- 1 张学进,罗清礼,张美霞. 白细胞介素对Graves眼病患者眼眶成纤维细胞的作用. 四川大学学报 2004;35(2):241-243
- 2 Wakelkamp IM, Gerding MN, Vandermeer JW, et al. Both Th₁- and Th₂-derived cytokines in serum are elevated in Graves' ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 2000;121(3):453
- 3 Pappa A, Calder V, Ajian R, et al. Analysis of extraocular muscle infiltrating T cells in thyroid associated ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 1998;112:427
- 4 张学进,李涛,罗清礼. IL-1、TNF- α 和INF- γ 对Graves'眼病患者与正常人眼眶成纤维细胞的作用. 眼科研究 2004;22(1):70-72
- 5 Mackay CR, Imhof BA. Cell adhesion in the immune system. *Immunology Today* 1993;14:99
- 6 Pappa A, Calder P, Fells P, et al. Adhesion molecule expression *in vivo* on extraocular muscles (EOM) in thyroid-associated ophthalmopathy (TAO). *Clin Exp Immunol* 1997;108(2):309-313
- 7 Cawood TJ, Moriarty P, O'Farrelly C, et al. The effects of tumour necrosis factor-alpha and interleukin 1 on an *in vitro* model of thyroid-associated ophthalmopathy: contrasting effects on adipogenesis. *Eur J Endocrinol* 2006;155(3):395-403
- 8 何为民,罗清礼,成娘,等. 粘附分子在Graves眼病眼外肌原位表达的研究. 中华眼科杂志 2001;37(4):267-269
- 9 张莉,李娜,赵凤林,等. 糖胺聚糖分析测定的研究进展. 分析化学评书与进展 2005;33(7):1023-1028
- 10 Rececca SB, Armin EH. Pathogenesis of Graves' Ophthalmopathy. *N*

Eng J Med 2000;329:1468-1475

- 11 Terry JS. Fibroblast biology in thyroid diseases. *Curr Opin Endocrinol Diabe* 2002;9:393-400
- 12 刘春玲,罗清礼,吕红彬. 甲状腺相关眼病眼眶组织病理学研究. 四川大学学报(医学版)2005;36(3):436-437
- 13 董凯,何为民,罗清礼. 甲状腺相关性眼病组织病理学研究. 国际眼科杂志 2008;8(6):1159-1161
- 14 吴汉妮,丁桂芝,沈迪. Graves病患者外周血淋巴细胞的IL-2/IL-2R水平及临床意义. 中华内分泌代谢杂志 1995;11:3
- 15 Sidiqi A, Monson JP, Wood DF, et al. Serum cytokine in thrototoxicosis. *J Clin Endo Crinol Metab* 1999;84(2):435
- 16 唐莉,罗清礼,周晓红. 甲状腺相关眼病患者外周血细胞因子表达的研究. 中华眼科杂志 2002;38(3):165-167
- 17 Kulig G, Pilarska K, Kulig J, et al. Usefulness of soluble ICAM-1 measurements for the evaluation of the disease activity and efficiency of therapy in patients with infiltrative Graves' ophthalmopathy. *Pol Arch Med Wewn* 2002;108(6):1161-1169
- 18 Wakelkamp IM, Gerding MN, Van der Meer JW, et al. Smoking and disease severity are independent determinants of serum adhesion molecule levels in Graves' ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 2002;127(2):316-320
- 19 Krassas GE, Pontikides N, Doukidis D, et al. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha, soluble intercellular adhesion molecule-1, soluble vascular cell adhesion molecule-1, and soluble interleukin-1 receptor antagonist in patients with thyroid eye disease undergoing treatment with somatostatin analogues. *Thyroid* 2001;11(12):1115-1122
- 20 黄勤,张家庆. Graves眼病患者尿糖胺聚糖测定及临床应用. 中华内分泌代谢杂志 1995;11(3):133-135
- 21 闽寒毅,刘熙朴,胡天圣,等. 氨基葡聚糖:Graves眼病活动度的指标. 眼科 2002;11(5):267-269
- 22 Martins JR, Furlanetto RP, Oliveira LM, et al. Comparison of practical methods for urinary glycosaminoglycans and serum hyaluronan with clinical activity scores in patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol* 2004;60:726-733
- 23 Kahaly G, Schuler AC, Sewell G, et al. Urinary glycosaminoglycans in Graves' Ophthalmopathy. *Clin Endocrinol* 1990;33:35-44