

银屑病关节炎发病模型

梁敏锐 陈向军 邹和建

银屑病关节炎 (psoriatic arthritis, PsA) 是一种与银屑病相关的炎症性关节病, 占银屑病患者的 5% ~ 7%。PsA 关节炎的形式多样, 从中轴关节到外周关节, 包括滑膜炎、毗邻软组织炎症、起止点炎、骨炎, 其中骨炎既有新骨生成, 又有骨溶解。PsA 病程多呈良性进展, 然而部分患者也可发展为残毁性关节炎。至今, PsA 的发病机制不明, 本文将综述 PsA 遗传学、免疫学的研究进展, 总结并提出银屑病关节炎发病模型的 4 个假说。

一、HLA - KIR 模型

在固有免疫应答中, 自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞借助杀伤细胞的免疫球蛋白样受体 (killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR), 通过细胞毒作用和 (或) 合成细胞因子来抵御感染, 而且可启动适应性免疫应答。在一些自身免疫性疾病中, NK 细胞抑制性受损可介导靶器官的损伤。抑制性 KIR (KIR2DL1、KIR2DL2/3) 同活化性 KIR (KIR2DS1、KIR2DS2) 基因序列 98% 相似, 其中 KIR2DL 结合于 HLA - Cw 配体, 并且几乎所有人都携带 KIR2DL1、KIR2DL2/3, 而分别有 35% 和 56% 的人 (欧洲裔美国人) 携带有 KIR2DS1 和 KIR2DS2。

Martin PM 等对 366 例 PsA 患者及 299 例对照进行 HLA I 类、KIR 基因分型, 发现 26.4% 的 PsA 患者携带有 KIR2DS1 和 (或) KIR2DS2, 并缺失 KIR2DL1、KIR2DL2/3 配体 HLA - C 等位基因, 而仅 15% 的对照具有此种表现型^[1]。Nelson GW 等根据统计分析得出 PsA 的易感性是由总的抑制性的 KIR 和活化性的 KIR 决定的^[2]。由此可提出 PsA 发病的 HLA - KIR 模型假说: PsA 的易感性是由活化性的 KIR 和抑制性的 KIR 表型之间的平衡所决定的, 携带有活化性的 KIR2DS1 和 KIR2DS2, PsA 发病风险增高, 抑制

性 KIR2DL 的 HLA 配体缺失降低了 NK 细胞活化的阈值, 从而共同导致了 PsA 的发生。

Williams F 等对 75 例 PsA (美国高加索人) 的 5 个 KIR 基因位点 KIR2DL1, -2DL2, -2DL3, -2DS1 及 -2DS2 进行检测, 发现携带 KIR2DS1 的 PsA 患者显著高于非 PsA 的银屑病患者及健康对照, 而且缺失 HLA - Cw * 06 链的 PsA 患者中携带 KIR2DS1 的病例较非 PsA 的银屑病患者明显增多^[3]。然而 Chang YT 等对 102 例中国台湾 PsA 患者检测发现, HLA Cw * 0602、KIR2DS1/S2 和 MICA - A9 可能不是引起 PsA 等位基因^[4]。

相关研究结果并不一致, 并且目前仅对 PsA 携带或不携带某些基因位点进行了研究, 并没有提供有关基因拷贝数的信息。有待于进一步在不同人种的细胞、分子水平进行验证。

二、T 细胞轴模型

PsA 患者受累组织的血管周聚集有大量 T 淋巴细胞, 它们可移行至皮肤组织或关节腔内衬膜。初始淋巴结生发中心有大量 B 淋巴细胞, 但其功能不明, 但研究发现不论是银屑病还是 PsA, 均与循环中的自身抗体无关。皮肤组织中主要见 CD4⁺ T 淋巴细胞, CD4⁺ / CD8⁺ T 淋巴细胞比值为 2:1, 而关节滑液和起止点处则以 CD8⁺ T 淋巴细胞为主, 提示 CD8⁺ T 淋巴细胞在 PsA 滑液中参与免疫应答, 除此还有如下支持点: ①PsA 和人类白细胞抗原 (HLA) I 类相关; ②在人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染的患者中, 尽管 CD4⁺ T 淋巴细胞选择性的清除, 仍可见表皮、滑膜、滑液中大量 CD8⁺ T 淋巴细胞单克隆增生, 甚至皮损程度更为严重, 可出现较大范围的红皮病^[5]。

PsA 患者滑液中以活化 (HLA - DR⁺) 的、成熟 (CD45RO⁺) 的 CD8⁺ T 淋巴细胞占主导, 此外 PsA 患者外周血 T 淋巴细胞还大量表达协同刺激分子 CD40L, 环孢素可明显抑制 T 细胞表面的 CD40L, 从而缓解病情^[6,7]。

Ioannis T 等发现 PsA 患者外周血、皮损及滑膜中

作者单位: 200040 上海, 复旦大学附属华山医院风湿科/复旦大学风湿、免疫、过敏性疾病研究中心 (梁敏锐、邹和建); 复旦大学附属华山医院神经内科 (陈向军)

通讯作者: 邹和建, 电子信箱: hjzhou@fudan.edu.cn

的 T 细胞受体 β 链可变区 (TCR β V) 发生了变异,通过对 PsA 患者 T 细胞互补决定区 3 (CDR3) 序列分析发现呈单克隆及多克隆的扩增,虽然未发现独特的 CDR3 核苷酸序列,但在 2 例 PsA 患者的皮损及滑膜中发现了同一序列,其中一些呈高度同源的氨基酸结构特征。提示了同源 T 淋巴细胞参与了 PsA 的发病,并且受累皮肤和滑膜中的 T 淋巴细胞为同一来源的^[8]。Curran 等在 PsA 关节炎症部位及外周血中发现了 12% 的扩增克隆具有同源的 CDR3 β 链氨基酸结构特征,同源序列全部是 CD8⁺ T 淋巴细胞,氨甲蝶呤亦不能抑制其克隆扩增,提示其为识别自身抗原的致病细胞^[9]。

CD4⁺ T 淋巴细胞可分为辅助性 T 淋巴细胞 (Th) 1、Th2、Th17 和调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 细胞。虽然一直认为 CD4⁺ T 淋巴细胞可能并非 PsA 主要的致病细胞,Gerald P 等通过分析 PsA 患者滑液和外周血中 Th1 来源的细胞因子 [(白介素 (IL) -2、肿瘤坏死因子 - β (TNF - β)、干扰素 - γ (INF - γ)] 和 Th2 来源的细胞因子 (IL -4、IL -10),发现除 IL -2 外,其他细胞因子在 PsA 患者滑液中均有表达,虽阳性率及浓度均低于 RA 患者,但提示 Th1 和 Th2 细胞也可能参与了 PsA 的炎症过程^[10]。

整合蛋白 VLA -1 是位于一些炎症组织中效应性记忆 T 细胞的标志,Goldstein I 等通过对 PsA 滑液中 VLA -1⁺ T 细胞和 VLA -1⁻ T 细胞的 CDR3 进行测序分析发现,VLA -1⁺ T 细胞浸润炎症性关节,经鉴定为单克隆增生的 Th1 细胞,可能是选择性针对某种独特的抗原^[11]。

Camilla J 等发现 PsA 患者外周血中 Th1 和 Th17 细胞显著增加,其中 Th17 细胞为高分化多功能性的记忆 Th17 细胞,可分泌多种细胞因子 IL -2、TNF - α 、IL -17,提示其可能具有高致病性;而同健康对照相比,Treg 的数量较少,但无统计学意义^[12]。

因此,推测 PsA 的发病可能是因为 T 细胞轴失调而致病的,其中以 CD8⁺ T 淋巴细胞为主导,CD8⁺ T 淋巴细胞通过 TCR 的 CDR3 识别抗原提呈细胞上与 MHC I 类分子结合的某种抗原肽,获得活化的第一信号,通过协同刺激分子 (如 CD40L - CD40) 的交联获得了活化第二信号,虽然这种抗原尚不清楚,活化后的 CD8⁺ 发生了单克隆扩增,导致了局部炎症的发生,效应机制有待进一步证实。CD4⁺ T 细胞中的 Th1、Th2、Th17 细胞也可能通过合成分泌细胞因子等机制参与了 PsA 的发病。

三、OPG/RANK/RANKL 模型

大量非对称性的骨侵蚀,显著的关节间隙狭窄和“铅笔杯”征是 PsA 的关节病变影像学特征之一,同时提示有骨质侵蚀。其中源自于单核 - 吞噬细胞系统的破骨细胞在骨质吸收中起主要作用。破骨细胞的分化和活化的分子基础尚不明确。目前认为细胞核因子 κ B 受体活化因子配基 (receptor activator of NF - κ B ligand, RANKL) 和 RANK 的信号通路是破骨细胞形成和活化的关键。表达于成骨细胞、间质细胞表面的 RANKL,与破骨细胞前体 (osteoclast precursors, OCPs) 表达的 RANK 相连接,提供分化信号,促使 OCPs 分化为破骨细胞。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 是 RANKL 的天然拮抗剂。另, TNF - α 可上调小鼠的 OCPs。

Ritchlin CT 等发现 PsA 患者,尤其是 X 线平片已有骨质侵蚀表现的患者,循环中 OCPs 较健康对照明显增加,体外实验发现 PsA 患者的外周血单个核细胞 (PBMC) 能更快分化为破骨细胞, OPG 和抗 TNF - α 抗体能抑制破骨细胞的形成, PsA 患者的 PBMC 能分泌更多的 TNF - α ; 体内实验发现 PsA 患者经抗 TNF - α 治疗后, OCPs 明显降低; 对软骨下骨及滑膜进行免疫组化分析, 组织切片中可见血管周有 RANK 阳性的单核细胞和破骨细胞, 滑膜衬里高表达 RANKL, 而 OPG 局限于内皮细胞, 骨保护素对骨溶解吸收的抑制, RANKL 与骨保护素的比例是决定骨溶解与否及严重程度的重要因素。

由此提出 PsA 发病的骨免疫模型,在 TNF - α 作用下, PsA 循环中 OCPs 增加,滑膜内皮细胞表面纤连蛋白、玻连蛋白受体表达上调, OCPs 进入富含血管的滑膜后,黏附于被促炎症因子活化的内皮细胞,同时内皮细胞高表达的 OPG 抑制了破骨细胞的分化,使少量的 OCPs 穿过致密的血管翳移行至骨,一旦 OCPs 到达血管翳 - 骨交界部位, OCPs 结合于滑膜细胞表面的 RANKL,在 TNF - α 和巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony - stimulating factor, MCSF) 作用下分化成熟,并侵蚀骨,穿过内皮细胞后, OCPs 与 TNF - α 诱发的成骨细胞和间质细胞表面的 RANKL 相互作用,进一步分化为破骨细胞,其中破骨细胞主要在软骨下骨和软骨 - 血管翳交界处作用导致了骨质重吸收。在此过程中, TNF - α 作用关键: ①增加了循环中的 OCPs; ②上调关节中 RANKL 的表达^[13]。

这一理论得到进一步发展。除了成骨细胞和间质细胞, RANKL 还表达于活化的 T 淋巴细胞,活化的

T 淋巴细胞可表达 TNF- α 、RANKL、IL-6、巨噬细胞抑制蛋白-1 α (MIP-1 α)。IL-7 可通过两种机制刺激破骨细胞的形成,首先,增加的 IL-7 可刺激 B 淋巴细胞生成,B220⁺ B 淋巴细胞前体细胞增加,并有助 OCPs 的活化,其次,IL-7 可促进 T 淋巴细胞产生细胞因子、RANKL 和 MCSF。Colucci S 等发现清除未经 TNF- α 和 MCSF 刺激的 PBMC 中的 T 淋巴细胞后,破骨细胞的生成几乎完全被抑制,清除未经刺激的滑液单个核细胞 (SFMCs) 中的 T 淋巴细胞后,70% 的破骨细胞生成被抑制,PsA 患者外周血中的 T、B 淋巴细胞、滑液中 T 淋巴细胞 IL-7 的 mRNA 水平,以及血清 IL-7 水平均高于对照,抗 IL-7 抗体作用于 PsA 患者的 PBMCs 和 SFMCs,可降低破骨细胞的生成,以上提示 T、B 淋巴细胞通过 RANKL、TNF- α 及 IL-7,帮助破骨细胞的形成,从而导致了 PsA 的骨质吸收^[14]。

Ritchlin CT 等发现 PsA 患者经抗 TNF- α 治疗后,OPCs 明显降低;Colucci S 等发现 RANK-Fc 和抗 TNF- α 抗体可抑制 PBMC 及 SFMC 破骨细胞的形成,并呈剂量依赖性,其中 RANK-Fc 对 PBMC 破骨细胞形成的抑制作用更强,而抗 TNF- α 对 SFMC 的抑制作用更强^[13]。

针对 OPG/RANK/RANKL 系统发展出若干治疗策略:抑制内源型 RANKL 的表达,阻断 RANKL,干扰 RANKL 结合,抑制 RANK 信号转导或促进 OPG 的表达来拮抗 RANKL-RANK 的效应等,尚在论证阶段。

四、由“表”及“里”模型

Rainer Z 等首先发现银屑病皮损处表皮角蛋白细胞中位于银屑病易感基因区域 PSORS6 的 JunB 基因表达下降,于是采用 Cre-loxp 系统在小鼠出生 2 周内敲除了表皮角蛋白细胞中 JunB 和 c-Jun 基因,产生了银屑病皮损和关节损伤,并且其组织学和分子标志物和 PsA 类似。不同于皮损的产生,关节损伤是由 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞通过 TNF 受体介导的,体内外实验还发现编码基因位于银屑病易感区域 PSORS4 的两种趋化蛋白 S100A8 和 S100A9 在 PsA 发病之前最早出现在基因突变的角蛋白细胞中,由此作者推测,角蛋白细胞中 JunB 的缺失诱导了趋化因子和细胞因子的表达,从而使中性粒细胞和巨噬细胞聚集于表皮,产生了银屑病皮损,并且数据支持表皮(“外”)的改变足以引发关节炎(“内”)和皮损这一假说。

而 Johansen 等却发现人类银屑病患者皮损中 JunB 表达上调,而 AP-1 的其他亚单位(c-Jun、c-

Fos 和 Fra-1)下调,与正常皮肤相比,AP-1 DNA 的结合活性几乎完全被阻断了,提示了无论 AP-1 的组成如何,c-Jun 下调或缺乏 AP-1 DNA 的结合则是 Ps/PsA 发生的关键步骤。

参考文献

- Martin MP, Nelson JL, F Pellett, *et al.* susceptibility to psoriatic arthritis: influence of activating killer Ig-like receptor genes in the absence of specific HLA-C alleles. *J Immunol*, 2002, 169(6): 2818-2822
- Nelson GW, Martin MP, Gladman D, *et al.* Heterozygote Advantage in autoimmune disease: hierarchy of protection/susceptibility conferred by HLA and Killer Ig-Like receptor combinations in Psoriatic Arthritis. *J Immunol*, 2004, 173(7): 4273-4276
- Williams F, Meenagh A, Sleator C, *et al.* Activating Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Gene KIR2DS1 Is Associated With Psoriatic Arthritis. *Hum Immunol*, 2005, 66(7): 836-841
- Chang WT, Zhou CT, Yu CW, *et al.* Cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with psoriasis. *Br J Dermatol*, 2007, 156: 899-905
- Duvic M, Johnson TM, Rapini RP, *et al.* Acquired immunodeficiency syndrome-associated psoriasis and Reiter's syndrome. *Arch Dermatol*, 1987, 123(12): 1622
- Costello P, Bresnihan B, O'Farrelly C, *et al.* Predominance of CD8+ T lymphocytes in psoriatic arthritis. *J Rheumatol*, 1999, 26(5): 1117-1124
- Daoussis D, Antonopoulos I, Andonopoulos AP, *et al.* Increased expression of CD154 (CD40L) on stimulated T-cells from patients with psoriatic arthritis. *Rheumatology*, 2007, 46(2): 227-231
- Tassioulas I, Duncan S, Centola M, *et al.* Clonal Characteristics of T Cell Infiltrates in Skin and Synovium of Patients with Psoriatic Arthritis. *Hum Immunol*, 1999, 60(6): 479-491
- Curran SA, FitzGerald OM, Costello PJ, *et al.* Nucleotide Sequencing of Psoriatic Arthritis Tissue before and during Methotrexate Administration Reveals a Complex Inflammatory T Cell Infiltrate with Very Few Clones Exhibiting Features That Suggest They Drive the Inflammatory Process by Recognizing Autoantigens. *J Immunol*, 2004, 172(3): 1935-1944
- Gerald P, Ernst W, Burkhard FL, *et al.* T cell derived cytokines in psoriatic arthritis synovial fluids. *Ann Rheum Dis*, 1998, 57(11): 691-693
- Goldstein I, Simon AJ, Horin SB, *et al.* Synovial VLA-1⁺ T cells display an oligoclonal and partly distinct repertoire in rheumatoid and psoriatic arthritis. *Clin Immunol*, 2008, 128(1): 75-84
- Camilla J, Gilles B, Jean PR, *et al.* Increased Numbers of Circulating Polyfunctional Th17 Memory Cells in Patients With Seronegative Spondylarthritides. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(8): 2307-2317
- Colucci S, Brunetti G, Cantatore FP, *et al.* Lymphocytes and synovial fluid fibroblasts support osteoclastogenesis through RANKL, TNF- α , and IL-7 in an in vitro model derived from human psoriatic arthritis. *J Pathol*, 2007, 212(1): 47-55 (收稿: 2010-03-23)